

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

GEORGES J.-P. HORNUS

1905-1940

Notre collègue Georges J.-P. Hornus, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, est mort au champ d'honneur le 9 juin dernier, près de Brienne, sur l'Aisne, au moment où, sur l'ordre de son chef, il repliait son poste de secours.

Affecté en qualité de bactériologiste à un laboratoire d'armée, au début de la mobilisation, Hornus avait décidé que son devoir était de partager les dangers de ses camarades en campagne. C'est ainsi que, sur sa demande, il fut nommé médecin de bataillon au 151^e régiment d'infanterie dont il suivit le sort jusqu'au jour où il fut frappé mortellement. « C'était non seulement un médecin, écrit son chef direct, en relatant sa mort, mais un officier magnifique, un de ceux dont l'âme trop haute n'aurait pas supporté, peut-être, le

désastre matériel et moral de notre retraite. Un ciel plus pur l'a recueilli. »

Né le 16 septembre 1905 à Annecy, Georges J.-P. Hornus avait fait ses études médicales à Paris. Externe des hôpitaux depuis 1926, il entra à l'Institut Pasteur en 1931, dans le Service de M. Levaditi pour participer aux recherches sur la poliomyélite, l'herpès et la cécité spontanée épidémique du singe. Bientôt il étendait le champ de ses investigations aux problèmes de la syphilis expérimentale, aux actions pharmacologiques de diverses substances et à l'histo-pathologie de la névrogliose. En 1935, il rédigea sa thèse sur *la périodicité saisonnière des maladies épidémiques et en particulier de la poliomyélite*, qui fut éditée dans les Monographies de l'Institut Pasteur.

Hornus accomplit également un stage dans le Service de M. Salimbeni (1934-1935) où il s'attacha à l'étude des *Salmonella*, surtout au point de vue de leur dissociation, de leur virulence et de leur structure antigénique. En 1935, il obtint une bourse de la Fondation Rockefeller qui lui permit de fréquenter le laboratoire du professeur H. Zinsser, à Boston, et plusieurs autres laboratoires américains. Il publia avec J.-P. Enders un mémoire sur la purification chimique des polysides du pneumocoque III.

A son retour en France, il fut nommé préparateur du cours supérieur de bactériologie à l'Institut Pasteur et chef de laboratoire dans les Services de MM. Legroux et Dumas. Il eut alors l'occasion de s'intéresser à la psittacose qu'il devait étudier jusqu'au moment où la mobilisation l'appela aux Armées. Parallèlement, à partir de 1939, il précisait avec M. Grabar les relations quantitatives entre les antigènes et les anticorps typhiques.

Hornus était un des jeunes espoirs de notre Maison. Par l'étendue et la qualité de son savoir, son ardeur pour la recherche, la rectitude de son jugement, la solidité et la clair-

voyance de son esprit critique, ses grandes vertus de parfaite honnêteté et de droiture, son enthousiasme et sa foi, il suivait strictement la tradition pastorienne. L'aménité de son caractère lui valait l'amitié de tous ses collègues.

Douloureusement frappé quelques mois avant la guerre par un deuil cruel, la mort de sa femme, il avait supporté cette épreuve avec courage, reportant toute son affection et ses espoirs sur ses trois petits enfants aujourd'hui orphelins.

L'Institut Pasteur exprime ses condoléances à la famille de notre regretté camarade. Il l'assure de la fidélité de son souvenir pour Georges J.-P. Hornus qui fut un noble et dévoué serviteur de la Science et de sa Patrie.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES BACILLES PARATUBERCULEUX

I. — PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES

par R. LAPORTE.

(*Institut Pasteur,
Laboratoire de Recherches sur la Tuberculose.*)

Le genre *Mycobacterium* groupe un nombre très élevé d'espèces microbiennes qui ont toutes pour caractère fondamental la résistance très marquée des microorganismes à la décoloration par les acides dilués et par l'alcool lorsqu'ils ont été fortement colorés par la fuchsine phéniquée de Ziehl. A ce caractère commun principal s'en ajoutent d'autres, telles la morphologie assez particulière des éléments (bâtonnets immobiles, très polymorphes, habituellement granuleux, parfois renflés en massues à l'une de leurs extrémités ou ramifiés), leur faible colorabilité par les colorants habituels, l'aérobiose presque stricte des cultures qui se développent plus lentement que celles de la plupart des autres germes, la fréquence de la production de pigments, les particularités nutritives et biochimiques (rôle favorisant de la glycérine, non-liquéfaction de la gélatine, non-coagulation du lait, absence de formation d'indol...).

Dans ce genre sont classés les bacilles de la tuberculose des mammifères et des oiseaux, le bacille de la lèpre humaine de Hansen, celui de la lèpre des rats de Stéphanisky, le bacille de l'entérite hypertrophiante des bovidés et tout un groupe de bacilles très répandus dans la nature, paraissant dépourvus de pouvoir pathogène spontané et que l'on étudie sous le nom de bacilles paratuberculeux.

A l'heure actuelle, tous les auteurs se rangent à l'opinion de Br. Lange [1] qui a mis en lumière le caractère saprophyte

de ces bacilles, caractère qui découle tant de leur ubiquité, de leur pléomorphisme, de la facilité avec laquelle ils s'adaptent aux conditions extérieures que de leur pouvoir faiblement pathogène pour les animaux à sang chaud.

Le nombre d'espèces de bacilles paratuberculeux connues à ce jour est très élevé ; Gordon [2] en a étudié à elle seule ou en collaboration avec Hagan [3], 331 souches différentes dont le plus grand nombre a été rencontré dans le sol. En 1933, Eichbaum [4], dans une revue générale très complète, rapporte plus de 175 articles originaux dans lesquels ont été décrites des espèces distinctes de bacilles paratuberculeux qui provenaient du sol, de l'eau, des végétaux, des animaux à sang froid, des instruments en cuivre, des sécrétions normales ou pathologiques de l'homme et des animaux à sang chaud, du lait, du beurre.

Les propriétés pathogènes des bacilles paratuberculeux ont été très étudiées en raison surtout des analogies assez étroites qui rapprochent ces germes des bacilles tuberculeux. Il est aujourd'hui classique de considérer que le pouvoir pathogène des bacilles du groupe paratuberculeux est des plus réduit pour les animaux de laboratoire ; il paraît se limiter, chez la majorité des espèces, à la production d'abcès locaux par inoculation sous-cutanée ou de péritonite à fausses membranes (ou plus rarement nodulaire) par inoculation intrapéritonéale. Exceptionnellement, certains auteurs ont obtenu, en employant principalement la voie veineuse, des granulations dans les poumons ou au niveau du foie, de la rate, des reins ou du péritoine rappelant les lésions de la tuberculose expérimentale du cobaye ou du lapin. Mais, même dans ce cas, la marche de l'infection n'est jamais progressive, elle n'entraîne pas la mort des animaux et les lésions ne sont pas transmissibles en série. Néanmoins, l'existence incontestable d'affections spontanées, bien qu'accidentelles, de l'homme ou des animaux homéothermes par certaines souches de bacilles paratuberculeux ne nous autorise pas à conclure à l'absence de propriétés pathogènes de toutes les espèces du groupe.

Pouvoir pathogène spontané pour l'homme des bacilles paratuberculeux.

S'il est assez fréquent d'isoler chez l'homme, dans les produits de sécrétion, des bacilles paratuberculeux se comportant comme des saprophytes banaux, il est exceptionnel d'observer des lésions reconnaissant comme unique agent pathogène un bacille de ce groupe.

Depuis la découverte, par Alvarez et Tavel, en 1885, du bacille du smegma, les isollements de bacilles acido-résistants saprophytes à partir des sécrétions normales ou pathologiques de l'homme se sont multipliés. On a rencontré des bacilles de ce type dans le cérumen, la peau, l'urine, le contenu intestinal, les sécrétions nasales et bucco-pharyngées, le sang, les crachats, le contenu de kystes infectés, d'abcès, de foyers de gangrène pulmonaire, le pus d'ostéite, d'appendicite, de pleurésie.

Mais les observations d'affection due uniquement au développement de bacilles paratuberculeux paraissent très rares. Nous avons pu en recueillir 5, dont un cas personnel, mais il est possible que les faits de cette sorte soient relativement plus fréquents qu'il n'apparaît, car le diagnostic de tuberculose peut être porté à tort si l'on ne prend pas soin de faire pratiquer un ensemencement des produits pathologiques accompagné d'inoculation au cobaye dans les cas suspects.

W. Ophüls [5] a isolé, en 1904, à partir du pus d'un abcès sous-cutané développé dans la région iliaque chez un médecin de marine, une souche de bacilles résistant fortement à la décoloration par les acides et par l'alcool. Cette souche s'est montrée dépourvue de propriétés pathogènes pour le cobaye, elle se développait rapidement sur les milieux usuels. On trouvait dans le pus une grande abondance de bacilles acido-résistants en culture pure ; il est très probable que le germe en cause a été introduit accidentellement sous la peau lors d'une injection antérieure d'une solution de morphine.

En 1918, L. Cobbett [6] a publié l'observation d'un cas d'éruption pustuleuse étendue chez un blessé de guerre qui était resté immergé dans la mer pendant une heure, au cours d'un naufrage. A partir du contenu des éléments éruptifs, l'auteur isola à plusieurs reprises et en culture pure un bacille acido-alcool-résistant, qui présentait tous les caractères d'un bacille paratuberculeux non pathogène pour les animaux de laboratoire.

L'observation rapportée par Beaven, en 1930, concerne un cas de spléno-pneumonie compliquée de pleurésie chez un nourrisson de onze semaines. L'exsudat pleural contenait en abondance des bacilles acido-alcool-résistants qui furent mis aisément en évidence sur les frottis et qui donnèrent une culture, en quarante-huit heures, sur gélose au sang. Les cultures obtenues étaient pures. Le germe isolé, ainsi que l'exsudat pleural furent inoculés à des cobayes qui ne devinrent pas tuberculeux.

L'étude détaillée de ce bacille a été publiée par Beaven et Bayne-Jones en 1931 [7].

Ce germe se développe rapidement à 37°, plus lentement à 22° ; tous les milieux usuels lui conviennent. Les cultures sont pigmentées en jaune et ont un aspect lisse et humide. Le pouvoir pathogène est presque nul pour le cobaye, le lapin, la poule, la grenouille ; l'inoculation d'une dose élevée ne produisant que des lésions locales rapidement curables. Ce bacille sensibilise les cobayes au filtrat de ses propres cultures (épreuve intradermique), mais non à la tuberculine aviaire ou bovine. Inversement, les cobayes tuberculeux ne réagissent pas à l'inoculation intradermique du filtrat de culture du bacille paratuberculeux.

L'enfant dont l'exsudat pleural contenait ce bacille a réagi violemment à l'intra-dermo-inoculation de filtrat de culture du germe en cause et très faiblement à la tuberculine humaine. Ce cas, fort intéressant, constitue un exemple typique d'infection pleuro-pulmonaire spontanée d'un enfant par un bacille paratuberculeux ; la maladie s'accompagna d'hyperthermie prolongée, mais guérit spontanément en quatre mois. L'origine n'a pas pu en être déterminée.

Bruynoghe et Adant [8] ont publié à la Société de Biologie, en 1932, l'étude d'une souche de bacille paratuberculeux isolée

du pus d'un abcès d'allure froide chez un enfant. La suppuration s'était formée au point d'injection d'une spécialité à base de rhodium colloïdal. Le pus fut trouvé très riche en bacilles acido-résistants ; ensemencé sur milieu de Petroff, il donna naissance à une culture pure de ces bacilles.

Il s'agit d'un germe très fortement acido- et alcool-résistant qui se développe sur tous les milieux glycerinés en donnant une culture jaune orangé, humide, d'aspect gras et luisant ; la croissance est assez lente (il faut dix à quinze jours pour obtenir un développement abondant). Ce bacille végète, comme ceux des observations précédentes, à la température du laboratoire. Il s'est montré inoffensif, entre les mains de l'auteur, pour le cobaye, le lapin, le rat blanc et le pigeon.

Nous devons au D^r Pierre Piéchaud, de Bordeaux, d'avoir pu étudier un nouveau cas d'infection humaine par un bacille du groupe des paratuberculeux. Il s'agissait d'un enfant de dix-sept mois, de race noire, venant du Gabon et qui présentait un abcès sous-cutané assez volumineux situé vers le rebord costal. Cette collection purulente avait les caractères d'un abcès froid. Il semble qu'elle a eu pour origine une injection sous-cutanée d'eau de mer rendue isotonique qui fut faite trois semaines avant l'apparition de l'abcès ; il est possible que le produit injecté, qui n'avait été soumis qu'à une tyndallisation, ait été insuffisamment stérilisé.

Le D^r Piéchaud fit l'analyse du pus prélevé aseptiquement et le trouva très riche en bacilles acido-alcool-résistants qu'il put aisément cultiver sur gélose ordinaire. Il nous adressa du pus pour identifier le germe observé.

Il s'agit d'un pus jaune sale, légèrement hématique, bien lié. Sur les frottis, on note un grand nombre de cellules inflammatoires pour la plupart peu altérées : polynucléaires neutrophiles prédominant, monocytes assez nombreux, quelques lymphocytes. Les colorations au Ziehl-Neelsen révèlent la présence de très nombreux bacilles acido-alcool-résistants isolés ou plus fréquemment groupés en amas phagocytés par des macrophages. La morphologie des bacilles est différente à première vue de celle des bacilles tuberculeux : bâtonnets droits ou incurvés, parfois coudés à angle droit, homogènes, présentant souvent des renflements diversement situés qui produisent des images en haltères, en massues, en fuseaux.

Les amas bacillaires forment des faisceaux ou des touffes serrées, mais on observe aussi de petits éléments placés bout à bout, réalisant l'aspect de streptobacilles. Pas de formes ramifiées, quelques éléments granulaires avec un énorme renflement en leur centre ; certains bacilles sont très longs avec de nombreuses parties claires.

Ces bacilles ne se colorent que d'une manière imparfaite par les méthodes ordinaires de coloration. Avec la méthode de Gram-Müch, ils apparaissent en très grande majorité Gram-positifs, de rares éléments sont rose pâle. Sur les frottis ainsi colorés on note une grande abondance de formes granuleuses, les renflements situés en un point quelconque des bacilles sont particulièrement nets.

Cette souche a été dénommée : souche P.

CARACTÈRES DES CULTURES DU BACILLE P. — L'ensemencement du pus, traité par l'acide sulfurique à 15 p. 100 pendant vingt minutes, sur gélose ordinaire, gélose glycinée, milieu à l'œuf de Löwenstein, donne naissance à des cultures déjà apparentes après trente-six heures et parfaitement développées en cinq à six jours, sous forme de colonies opaques, blanc grisâtre, à surface terne ; colonies qui confluent pour former une couche d'épaisseur irrégulière, finement plissée et de consistance friable. Les cultures s'émulsionnent assez facilement dans les liquides malgré leur aspect rugueux. Mêmes caractères des subcultures. La température optima de développement est 38°, mais la croissance s'effectue aussi, plus lentement, à 20 et jusqu'à 47°.

L'ensemencement de suspensions très diluées donne naissance en six jours, sur milieu à l'œuf, à de petites colonies isolées, arrondies, d'aspect terne, s'accroissant peu, devenant tardivement muriformes, à centre ombiliqué. On obtient par ensemencement des mêmes suspensions diluées, sur gélose, des colonies beaucoup moins nombreuses que sur milieu à l'œuf ; elles ont un aspect identique, mais paraissent plus sèches ; en vieillissant elles s'étalent largement, s'aplatissent, prenant une forme très irrégulière à surface mamelonnée.

Dans les milieux liquides (bouillon ordinaire ou glyciné, milieu synthétique de Sauton), notre bacille ensemencé en profondeur ne trouble pas le milieu. En trois jours il apparaît de fins flocons dans le fond des ballons ; très vite un voile se forme, puis s'épaissit et se plisse légèrement ; ce voile très fragile se dissocie et tombe spontanément, mais il se reforme ensuite à plusieurs reprises. Le pH des milieux liquides devient rapidement alcalin : 7,5, 7,8, 8,3, après une, deux et trois semaines.

Sur pomme de terre, glycinée ou non, le développement est rapide et abondant, il se forme une couche épaisse, plissée, sèche, gris jaunâtre ; un voile apparaît à la surface du bouillon du fond du tube.

Les cultures abondantes sur milieux solides (gélose en boîtes de Roux) répandent une odeur spéciale, assez forte, rappelant beaucoup celle des

coquillages. L'odeur des cultures en bouillon est nettement ammoniacale : il n'en est pas ainsi sur le milieu synthétique de Sauton.

Dans les cultures, les bacilles présentent beaucoup moins de diversité de forme que dans le pus ; ils sont aussi plus courts, mesurant en moyenne $1\frac{1}{2}$ à $2\ \mu$ de longueur au lieu de $1\frac{1}{2}$ à $9\ \mu$ dans le pus. Dans les voiles sur milieux liquides, les bacilles sont plus longs que sur milieux solides ; les formes incurvées y sont aussi plus abondantes (en virgule, en apostrophe, en S). Les aspects en haltères, massues, fuseaux, épingles sont aussi fréquents dans les cultures que dans le pus.

La vitalité en culture paraît très longue, des repiquages effectués après deux ans ont été fertiles.

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL DU BACILLE P. — Ce bacille possède un pouvoir pathogène très réduit pour les animaux de laboratoire (Cobayes, Lapins, Poules) qui le reçoivent par voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse.

L'inoculation par voie sous-cutanée de 20 milligrammes de culture au cobaye produit en trois semaines un petit abcès qui se résorbe spontanément sans s'ouvrir et ne s'accompagne pas d'hypertrophie des ganglions lymphatiques de voisinage.

Injectés par voie veineuse, à la dose de 20 milligrammes au lapin et à la poule et de 10 milligrammes au cobaye, ces bacilles ne paraissent pas modifier l'état de santé de ces animaux. Mais il se forme, néanmoins, chez les cobayes et lapins inoculés dans ces conditions, des granulations fugaces constituées aux environs du dixième jour après l'inoculation et qu'on ne retrouve pas, en général, chez les animaux sacrifiés après deux mois. Chez les lapins, les granulations siègent au niveau des poumons et des reins, elles sont parfois très nombreuses et ont un aspect translucide ou légèrement opaque, non caséeux. Sur les coupes histologiques, les lésions pulmonaires ont revêtu, chez deux animaux sacrifiés l'un le quinzième et l'autre le trente et unième jour, l'aspect de nodules actinomycosiques typiques : grain dont le centre bleu offre un aspect granuleux sur les coupes colorées par la méthode de Ziehl et dont la périphérie est formée par une couronne de massues acido-résistantes en disposition radiée. Autour des grains, il s'est constitué une zone concentrique d'inflammation assez faible consistant en une accumulation d'hystiocytes serrés les uns contre les autres avec de très nombreux lymphocytes et une légère fibrose périphérique ; le

tissu pulmonaire entourant les granulations est normal. Dans les reins, nous n'avons pas rencontré, au trente et unième jour, de formations pseudo-actinomycosiques ; les granulations renfermaient seulement des bacilles ramifiés, gonflés en massues ou en forme de crosses longues, épaisses et ramifiées.

Rappelons que Schulze et Lubarsch [9] ont signalé, anciennement, les formes rayonnées que prend le bacille de la fléole dans le rein du lapin inoculé par voie rénale ou artérielle. Lubarsch a observé que ces formations disparaissent assez vite, car il ne les a plus retrouvées au quarante-deuxième jour ; nous avons fait la même observation. H. Limousin [10], en 1924, a obtenu également des grains pseudo-actinomycosiques dans les reins et les poumons de lapins inoculés par voie veineuse avec 20 milligrammes de B. de la fléole ou de Grassberger. Cet auteur a trouvé ces aspects particuliers entre la deuxième et la septième semaine après l'inoculation.

Chez les cobayes, recevant par voie veineuse 10 milligrammes de culture de notre bacille, on n'observe pas de granulations pulmonaires, mais seulement une congestion modérée des bases accompagnée d'une hypertrophie légère de la rate. Par contre, nous avons observé, dans tous les cas, des lésions rénales sous forme de granulations nombreuses et souvent confluentes. Ces lésions constituées en quelques jours disparaissent au bout de six à sept semaines ; elles ne se caséifient jamais. Sur les coupes histologiques, on trouve des bacilles acido-résistants présentant habituellement des formes anormales, géantes, ramifiées, en crosse. La constance des localisations rénales (nous l'avons observée chez 32 cobayes) est un fait remarquable, en ce sens que, contrairement au bacille de la tuberculose qui ne crée des lésions que d'une manière tout à fait exceptionnelle au niveau du rein du cobaye, le bacille P s'y fixe toujours électivement. L'absence de granulations rénales dans la tuberculose expérimentale du cobaye ne paraît donc pas explicable seulement par des raisons d'ordre anatomique.

Considérations sur les cas d'infection de l'homme par des bacilles paratuberculeux.

Dans les 5 observations que nous venons de résumer (3 abcès sous-cutanés, une pleuro-pneumonie, une éruption cutanée généralisée) il s'agissait de cas incontestables d'infection

humaine par un bacille acido-résistant paratuberculeux. Toutes ces affections se terminèrent par la guérison spontanée.

Dans les 3 observations d'abcès sous-cutané, les bacilles, responsables de la suppuration, avaient, selon tout vraisemblance, été inoculés lors d'une injection médicamenteuse faite quelque temps avant l'apparition du pus, mais l'abondance des bacilles acido-résistants était telle, dans les 3 cas, qu'il est évident que les germes s'étaient multipliés activement *in vivo*.

L'observation publiée par Cobbet laisse entendre que le bacille paratuberculeux, agent d'une éruption cutanée, a été introduit dans l'organisme du malade lors d'une immersion prolongée dans l'eau de mer. Dans le cas que nous avons étudié, c'était aussi de l'eau de mer insuffisamment stérilisée qui a été à l'origine de l'infection. Tout porte à croire que, dans ces deux observations, il s'agissait de bacilles acido-résistants de l'eau. Nous avons noté d'ailleurs une grande ressemblance des caractères du bacille isolé par Cobbet avec ceux du bacille P.

L'infection de l'homme par un bacille paratuberculeux, qui ne se produit que très rarement, paraît donc, dans la règle, de source accidentelle. Néanmoins, dans l'observation de pleuropneumonie du nourrisson publiée par Beaven l'origine de l'inoculation du bacille paratuberculeux, agent de la maladie, n'apparaît pas.

Les observations non discutables que nous venons de rapporter ne nous permettent pas de souscrire entièrement à l'opinion exprimée autrefois par Moeller [11] et qui est encore généralement tenue pour vraie : « Si, en effet, l'existence de pseudo-bacilles de la tuberculose chez l'homme sain ou dans un organe malade (gangrène, amygdalite) a souvent été démontrée, on ne saurait pourtant attribuer quelque importance étiologique à ces bactéries. » Il n'est pas douteux que le plus grand nombre des bacilles paratuberculeux trouvés dans la gangrène, les bronchites et les bronchectasies, les suppurations ouvertes ne soient, en effet, des germes dont l'action pathogène est des plus réduite et qu'il faille attribuer aux autres microorganismes présents dans ces lésions le rôle étiologique

principal. Mais on peut aussi trouver chez l'homme des bacilles paratuberculeux capables de créer, sans être associés avec d'autres germes, des lésions curables ayant un caractère inflammatoire subaigu et dans lesquelles ils se multiplient abondamment. C'est, sans doute, au moins autant à une virulence anormale du germe qu'à une sensibilité individuelle accrue que l'on doit attribuer l'apparition de ces lésions ; nous observerons seulement que trois fois sur cinq il s'est agi d'enfants. Or, on connaît la sensibilité particulière des jeunes sujets à l'infection tuberculeuse. Nous avons montré, dans une communication antérieure [42], que les très jeunes animaux sont beaucoup plus sensibles que les adultes à l'infection par des bacilles tuberculeux *d'un type très peu virulent pour l'espèce en cause*. Cette hypersensibilité nous a permis d'obtenir, par inoculation intracérébrale ou par voie veineuse, chez les poussins, une infection générale à bacilles bovins rapidement mortelle que l'on ne peut pas provoquer chez l'adulte avec ce type bacillaire. Les très jeunes cobayes sont, de même, très sensibles au bacille aviaire qui produit chez eux, par inoculation sous-cutanée, une réaction ganglionnaire intense et prolongée n'apparaissant pas chez les adultes qui reçoivent une dose de 100 à 4.000 fois plus élevée. Il est permis de supposer qu'une sensibilité de même ordre peut expliquer les cas d'infection de l'enfant par un bacille paratuberculeux normalement avirulent pour l'homme adulte dans les conditions naturelles.

Pouvoir pathogène expérimental des bacilles paratuberculeux.

Les conclusions de nombreuses études relatives aux propriétés pathogènes des bacilles paratuberculeux pour les animaux de laboratoire ne sont pas toutes absolument concordantes, notamment au sujet des analogies entre les lésions paratuberculeuses et celles que produit le bacille de Koch. Cette question est d'ailleurs avant tout d'ordre histologique et doit être envisagée avec l'étude anatomo-pathologique des altérations dues aux bacilles acido-résistants saprophytes.

Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître que l'inoculation sous-cutanée ou péritonéale de ces bacilles provoque des lésions locales (abcès, semis de fines granulations, nodules à contenu purulent) assez semblables à celles qui sont produites, à la porte d'entrée, par le bacille tuberculeux. Par contre, alors que la plupart des observateurs n'obtiennent aucune généralisation de l'infection paratuberculeuse, certains trouvent les viscères criblés de tubercules comme si les lésions locales avaient évolué vers l'envahissement de l'organisme entier. De tels résultats sont exceptionnels ; ils révèlent néanmoins que le pouvoir pathogène des nombreuses espèces du groupe acido-résistant saprophyte est variable dans de larges limites suivant la souche.

Les résultats obtenus par voie intra-veineuse paraissent plus réguliers. Tous les auteurs ont remarqué que, lorsque les doses injectées sont suffisamment élevées, des tubercules, caséux ou non, mais toujours spontanément curables, se continuent dans les organes : poumons, reins, rate, foie. Nous étudierons dans la suite les particularités histologiques de ces lésions ; il nous suffira d'attirer dès à présent l'attention sur deux caractéristiques capitales du pouvoir pathogène des bacilles paratuberculeux inoculés par voie veineuse :

1° Seules les fortes doses de bacilles sont susceptibles de provoquer la formation de lésions ; les doses inférieures à 0 milligr. 5 étant sans effet apparent.

2° Ce fait s'explique par l'impossibilité pour ces bacilles de se multiplier dans l'organisme des animaux homéothermes. Un certain nombre de germes inoculés survivent *in vivo* pendant un temps assez long. Ainsi Br. Lange [13] a montré que de nombreuses souches de bacilles paratuberculeux provenant d'animaux à sang froid, d'instruments en cuivre, de la terre, de l'eau conservent leur vitalité dans l'organisme des animaux de laboratoire pendant un temps allant jusqu'à trente-deux semaines ; et cela non seulement au niveau du point d'inoculation mais aussi dans les foyers métastatiques (ganglions et rate). Mais sauf dans des cas tout à fait exceptionnels il ne se produit pas de développement appréciable *in vivo*. Le tableau suivant dans lequel est rapporté le nombre de bacilles cultivables par 10 centigrammes d'organes

de cobayes ayant reçu 1 milligramme de bacille P par voie veineuse et qui ont été sacrifiés à des dates variables après l'inoculation, montre la disparition progressive de ces germes (1). On comprend que c'est seulement lorsqu'ils sont introduits en nombre important dans les tissus qu'ils peuvent créer *in situ* des altérations visibles.

TEMPS après l'inoculation	NOMBRE DE COLONIES POUR 10 CENTIGRAMMES		
	Foie	Rate	Poumons
24 heures	150 000	90.000	25 000
48 heures	75 000	70.000	10.000
5 jours	30.000	25.000	9.000
10 jours	25 000	28.000	5 000
15 jours	4.000	15.000	2.000
25 jours	2.500	8.000	700
35 jours	800	1.800	300
50 jours	30	600	250
2 m. 1/2	0	120	30
5 mois	8	30	0
9 mois	0	0	0

ACTION DES SUBSTANCES GRASSES A RÉSORPTION LENTE SUR LES LÉSIONS PRODUITES PAR LES BACILLES PARATUBERCULEUX

Dès les premières recherches sur les bacilles paratuberculeux, Petri, Rabinowitsch, Korn, Tobler, Mayer, Moeller, Bezançon et Philibert rendirent classique le rôle activant du beurre sur les lésions tuberculoïdes produites par l'injection à l'animal de culture de ces bacilles. La découverte de ce phénomène revient à Petri [14], qui, au cours d'expériences sur le pouvoir pathogène expérimental de bacilles acido-

(1) Nous avons suivi la technique suivante : un fragment de l'organe à explorer est prélevé stérilement et pesé. Puis on le broie très minutieusement dans un mortier avec du sable stérile. A partir du produit de broyage on prépare alors des dilutions successives dans de l'eau physiologique, à des titres décroissants. Il est ainsi possible d'obtenir des suspensions suffisamment diluées pour ne contenir que quelques bacilles cultivables par centimètre cube. Ces suspensions sont ensemencées sur milieu de Löwenstein. Après développement des colonies il est aisé de calculer le nombre de bacilles vivants contenus dans 10 centigrammes de tissu.

résistants rencontrés dans le beurre de Berlin, observa, en collaboration avec Robert Koch, que ces germes différaient très notablement du bacille de la tuberculose. Il isola ces bacilles en culture pure et fit la recherche de leurs propriétés pathogènes ; les cultures inoculées dans le péritoine de cobayes ne produisirent des lésions que lorsqu'on les inoculait en grande quantité, mais leur effet pathogène était très notablement augmenté par l'injection concomitante de beurre stérilisé. En inoculant le mélange beurre-bacilles, Petri reproduisit une péritonite à fausses membranes ayant un caractère nodulaire et semblable à celle qu'il avait observée chez les animaux qui avaient reçu directement le beurre bacillifère du commerce. Presque en même temps que Petri, Lydia Rabinowitsch reproduisit des expériences identiques dans le même laboratoire (Robert Koch). A la suite de ces auteurs, les observations se multiplièrent sur l'action activante que le beurre stérile exerce sur le pouvoir pathogène des bacilles paratuberculeux. On acquit ainsi rapidement la certitude qu'en inoculant ces germes mélangés à du beurre on obtient des lésions graves rappelant beaucoup celles de la tuberculose et susceptibles d'entraîner la mort des animaux, tandis que l'inoculation des mêmes bacilles sans beurre ne produit que des lésions discrètes et curables. Korn [15], Tobler [16] montrèrent même que certaines souches de bacilles tuberculeux inoculées avec du beurre donnent naissance à des lésions éloignées du point d'inoculation (en particulier dans les poumons), tandis que les mêmes germes inoculés en suspension aqueuse n'engendrent que des lésions locales.

Malgré leur richesse en bacilles acido-résistants, les lésions produites par des bacilles paratuberculeux introduits en même temps que du beurre stérile ne sont pas capables de se transmettre en série lorsqu'on inocule un fragment de tissu nécrosé à des animaux sains. Maria Tobler [16] a constaté que des fragments de ganglions caséifiés provenant de cobayes inoculés avec un mélange de culture de son bacille II et de graisse stérile ne donnait naissance qu'à quelques granulations épiplœiques lorsqu'elle les injectait dans la cavité péritonéale de cobayes sains. Bezançon et Philibert [17] ont essayé de « récu-

pérer la virulence » du bacille de la fléole en inoculant, avec du beurre, la sérosité péritonéale d'un cobaye mort de péritonite causée par ce germe dans le péritoine d'un second cobaye. Ils ont obtenu la mort de l'animal et continué les inoculations en série en diminuant chaque fois la dose de sérosité et de beurre. Au septième passage, la dose de beurre était très faible ; l'animal a survécu indéfiniment, présentant seulement à l'autopsie des lésions de sclérose péri-splénique, telles qu'en donne le bacille inoculé seul.

Il était naturel de rechercher si l'action activante du beurre sur les lésions produites par des bacilles du groupe paratuberculeux appartient aussi à d'autres corps gras. Tobler [16] a observé que l'injection de graisse animale avait le même pouvoir activant que le beurre. C'est Grassberger [18] qui montra, le premier, que des corps de composition chimique très différente de celle des graisses neutres, mais dont les propriétés physiques sont semblables, activent aussi les lésions produites par des bacilles acido-résistants. De l'huile de paraffine inoculée en même temps que des bacilles paratuberculeux renforce d'une manière très considérable la virulence de ces germes en produisant une généralisation de l'infection : les poumons, en particulier, deviennent le siège de lésions granuliques massives.

On perdit ensuite de vue l'intérêt de ces observations et ce n'est qu'en 1932 que Thomson et surtout Hagan et Levine [19] reprirent les recherches sur l'action activante des corps gras. Ces auteurs ont insisté surtout sur les lésions métastatiques que les émulsions de bacilles paratuberculeux dans l'huile de paraffine ou le beurre permettent d'obtenir.

Ultérieurement, l'action activante des paraffines, solides ou liquides, fut bien étudiée à l'Institut Pasteur par Coulaud (2), Saenz (3), Noël Rist (4), non en ce qui concerne l'action pathogène des bacilles paratuberculeux, mais au sujet des propriétés sensibilisantes et tuberculigènes des bacilles tubercu-

(2) *Revue de la Tub.*, **11**, 1934, p. 851. *Bull. de l'Acad. de Méd.*, **115**, 1936, p. 232.

(3) *C. R. Soc. de Biol.*, **120**, 1935, p. 870 et 1050. *Ces Annales*, **60**, 1938, p. 58.

(4) *Ces Annales*, **61**, p. 121.

leux tués. Lorsqu'ils sont incorporés dans de la paraffine solide (Coulaud et Rist) ou liquide (Rist), ou dans un corps de composition chimique très voisine : l'huile de vaseline (Saenz), les bacilles tuberculeux tués font preuve de propriétés pathogènes beaucoup plus intenses que les mêmes germes en suspension aqueuse. Au lieu de produire des lésions uniquement au foyer d'inoculation, ils créent aussi des altérations à distance et spécialement dans les poumons. Nous reviendrons plus loin sur ces importantes recherches, notamment en ce qui concerne l'accroissement des propriétés sensibilisantes des bacilles tuberculeux morts enrobés dans une paraffine. Il est bien évident que le mécanisme de l'action activante des corps gras sur les lésions produites par des germes acido-résistants revêt un mécanisme identique, qu'il s'agisse de bacilles paratuberculeux ou de bacilles tuberculeux tués.

Nous avons nous-même étudié longuement les modalités de cette action activante en ce qui concerne les bacilles paratuberculeux, qui font seuls l'objet de cette étude.

Nos recherches ont porté sur les modifications que la présence de graisses de différentes natures imprime aux lésions produites par des bacilles paratuberculeux chez des animaux de laboratoire : cobaye, lapin, rat blanc, poule. Sept souches de bacilles appartenant toutes au groupe paratuberculeux, mais de pouvoir pathogène différent, ont été utilisées : le bacille P isolé par nous d'un pus d'abcès froid et dont nous avons donné ci-dessus une étude détaillée, le bacille de Gajinsky (*), le bacille du lait de Moeller provenant de la collection du laboratoire, 2 bacilles isolés par Sabrazès et Le Chuiton (3) de cobayes inoculés avec des fragments de ganglions

(*) Isolé par cet auteur d'un ganglion mésentérique d'un jeune cobaye [49]. Les cultures sont lisses, fortement pigmentées en jaune orangé et se développent lentement à la température du laboratoire et plus rapidement à 37°. Les bacilles sont très peu pathogènes pour le lapin et un peu plus pour le cobaye. L'inoculation sous-cutanée entraîne chez cet animal la formation d'un abcès qui se fistulise et guérit spontanément ; mais les ganglions de la région inoculée se tuméfient et contiennent de petits foyers caséux. Les animaux se sensibilisent à la tuberculine. Par voie péritonéale, ces bacilles donnent des lésions épiplaïques, mais pas d'atteinte viscérale.

(5) C. R. de la Soc. de Biol., 145, 1934, p. 171.

humains de maladie de Hogdkin (nous avons étudié ces deux souches avec ces auteurs [20]), le bacille isolé par Bruynoghe d'un pus d'abcès [8] et un bacille que nous avons isolé en ensemençant sur milieux à l'œuf le produit de broyage de mouches domestiques préalablement traité par l'acide sulfurique à 5 p. 100 (6).

Nous prendrons les lésions des cobayes inoculés avec des bacilles de la souche P mis en suspension dans de l'huile de paraffine comme type de description.

a) INOCULATION SOUS-CUTANÉE. — Inoculé en suspension dans l'eau physiologique à une dose supérieure à 1 milligramme, le bacille P provoque la formation d'un petit abcès constitué en quelques jours et qui se résorbe spontanément sans retentissement appréciable sur les ganglions de voisinage. Lorsqu'on a recours à des doses très élevées (supérieures à 20 milligrammes), il est parfois possible de retrouver, par culture, des bacilles dans les organes (foie, rate, ou plus exceptionnellement poumons). Ces organes sont toujours indemnes de lésions macroscopiques.

Lorsqu'on procède à l'inoculation des mêmes germes en émulsion dans l'huile de paraffine, les lésions obtenues sont différentes. Tout d'abord, l'abcès local apparaît plus tôt et atteint un développement considérable ; avec la dose de 1 milligramme il se constitue, en trois jours seulement, un énorme empâtement dans la région inoculée, puis un abcès se forme et se fistulise en dix à quinze jours, donnant naissance à un énorme chancre qui persiste pendant deux mois. Chez les animaux inoculés dans la région inguinale et sacrifiés entre le trentième et le centième jour, on trouve, à l'autopsie, des ganglions régionaux et sous-lombaires très hypertrophiés et caséifiés ; la rate est, en général, légèrement hypertrophiée, mais ne montre pas de granulations appa-

(6) Il s'agit d'un bacille fortement alcoolo- et acido-résistant donnant sur les milieux ordinaires, glycinés ou non, des cultures blanc grisâtre, lisses, qui se pigmentent en jaune brun par vieillissement. Le développement s'effectue rapidement à la température du laboratoire et plus lentement à 37°. Inoculé en suspension dans l'eau physiologique, ce bacille se montre entièrement dépourvu de propriétés pathogènes pour le cobaye, le lapin et la poule.

rentes ; le foie est normal, mais les poumons présentent toujours des granulations porcelainées, en nombre variable, n'ayant pas de tendance à la caséification.

Sur les frottis du pus de l'abcès formé au point d'inoculation ainsi que sur ceux des ganglions sous-lombaires ou des granulations pulmonaires, on trouve de très nombreux bacilles acido-résistants, rarement isolés, le plus habituellement groupés à l'intérieur d'un monocyte ou à la périphérie d'une gouttelette huileuse non résorbée ; il est à noter que l'on retrouve ces gouttelettes sur les frottis et sur les coupes histologiques des lésions pulmonaires.

b) INOCULATION PÉRITONÉALE. — Le bacille P ne produit que des lésions très limitées et ne se généralisant jamais lorsqu'il est introduit, en suspension aqueuse, dans le péritoine des cobayes. Il n'en est pas de même lorsque l'inoculation est faite dans un véhicule huileux. Avec une dose de 1 à 5 milligrammes de culture émulsionnée dans 1 cent. cube d'huile de paraffine, on obtient constamment des lésions extrêmement intenses entraînant la mort des cobayes dans un délai qui ne dépasse pas trente jours. Le plus grand nombre des animaux meurent entre le huitième et le quinzième jour. Chez tous, il est possible, à partir du cinquième ou sixième jour qui suit l'inoculation, d'isoler par hémoculture des bacilles paratuberculeux circulants.

À l'autopsie, on constate que les lésions sont péritonéales et pulmonaires. Nous avons noté d'une manière constante la présence d'un épanchement péritonéal léger et d'un épanchement pleural abondant (de 5 à 15 cent. cubes d'un liquide citrin, très fluide, contenant de très nombreux lymphocytes, des polynucléaires neutrophiles assez rares et des macrophages bourrés d'enclaves huileuses ; on y trouve aussi des gouttelettes d'huile libres, parfois volumineuses). Les poumons, hépatisés, sont le siège de lésions généralisées de couleur blanche, d'aspect caséeux, tantôt disposées en réseau, en damier, en jeu de patience donnant alors aux sections de l'organe l'aspect de coupes de noix muscade, tantôt confluentes et formant des blocs de pneumonie caséuse. Les gan-

glions trachéo-bronchiques sont hypertrophiés et caséifiés en partie.

Les lésions péritonéales ne sont pas moins intenses. De fausses membranes épaisses, fibreuses, d'un blanc jaunâtre englobent les organes et en particulier la rate, l'épiploon (très hypertrophié), le rein gauche, qui, soudés entre eux, forment un bloc volumineux adhérent aux anses et à la paroi. Le foie est gros et présente à sa surface des fausses membranes épaisses disposées en taches de bougie ; même aspect de la face inférieure du diaphragme, du rein droit, des glandes génitales ; on note des traînées de nodules en grains de chapelet sur le mésentère et le péritoine pariétal épaissi et dépoli. Les ganglions mésentériques sont toujours hypertrophiés et caséifiés en partie.

Sur des frottis d'exsudat pleural ou péritonéal et sur les coupes de poumons, de lésions péritonéales ou ganglionnaires, on trouve des bacilles acido-résistants très nombreux, isolés ou le plus souvent groupés en couronne à la périphérie de gouttelettes d'huile. Les ensemencements sur gélose donnent, dans tous les cas, des colonies confluentes de bacilles P.

c) INOCULATION INTRA-GANGLIONNAIRE. — Ce mode d'inoculation fournit des résultats identiques à ceux de l'inoculation intraveineuse, mais il se prête mieux à l'injection de suspensions huileuses, car il n'expose pas au choc immédiat et mortel par embolies graisseuses. Nous utilisons la méthode de Ninni : injection dans un ganglion cervical mis à nu. On peut injecter 1/2 cent. cube de suspension huileuse, sans difficulté si on prend soin d'utiliser une aiguille fine, de pousser lentement l'injection et de maintenir l'aiguille en place pendant deux à trois minutes après la fin de l'injection, temps nécessaire pour que l'huile puisse s'écouler par les lymphatiques efférents.

Nous avons inoculé la dose moyenne de 1 milligramme de culture mis en suspension dans 1/2 cent. cube d'huile de paraffine.

Les animaux sont morts spontanément dans un temps variant de huit à trente jours. Ils présentaient tous, à l'autopsie, un tableau identique : lésions pulmonaires de

caractère particulièrement massif ayant provoqué, dans les derniers jours de la vie, une dyspnée continue très intense. L'aspect est le même que celui des lésions faisant suite à l'inoculation intrapéritonéale : taches blanches, opaques, réparties régulièrement dans l'ensemble du tissu pulmonaire et confluant par places, pour former des blocs de pneumonie caséuse. La seule différence est que l'épanchement pleural, qui apparaît constamment chez les cobayes inoculés par voie péritonéale, fait habituellement défaut chez ceux qui sont inoculés par la voie ganglionnaire. Tous les animaux morts aux environs du vingtième jour et surtout ceux qui meurent plus tardivement, sont porteurs de lésions de pleurite adhésive constituées à la surface des blocs caséux du poumon. Les adhérences qui soudent l'organe à la paroi prennent rapidement un caractère fibreux ; il devient alors impossible de prélever le poumon sans arracher une partie du parenchyme.

En dehors des lésions pulmonaires, on trouve aussi des altérations du ganglion inoculé et des ganglions cervicaux voisins qui se transforment tous rapidement en cavités remplies de pus caséux entourées d'une gangue scléreuse de périadénite. Si l'animal survit assez longtemps, la fistulisation à la peau du ganglion inoculé est de règle.

Le foie ne présente habituellement pas de lésions apparentes. La rate est hypertrophiée chez la plupart des animaux. Quant aux reins, ils sont toujours le siège de lésions produites par le bacille P inoculé par voie veineuse ou, ce qui revient au même, par voie ganglionnaire. Ces lésions consistent en des granulations translucides isolées ou assez souvent confluentes ; elles sont atténuées chez les animaux morts tardivement.

Modalités de l'action de l'huile de paraffine sur les lésions produites par les bacilles paratuberculeux.

L'action activante de l'huile de paraffine peut s'exercer de diverses façons ; c'est ainsi qu'elle est mise en évidence, comme nous venons de le voir, en inoculant à un animal un

mélange de culture et d'huile (7). Mais on peut aussi la révéler par la propriété curieuse que possède l'huile de fixer, dans tous les points de l'organisme où elle se trouve, les bacilles paratuberculeux circulants. Aux points où s'effectue la rencontre de l'huile et des bacilles, des lésions extrêmement intenses se développent rapidement, ainsi qu'il ressort des expériences suivantes :

1° INJECTION A DES COBAYES D'HUILE DE PARAFFINE (2 CENT. CUBES) PAR VOIE SOUS-CUTANÉE ET INOCULATION SIMULTANÉE DES BACILLES P PAR VOIE VEINEUSE (3 MILLIGRAMMES DANS 1 CENT. CUBE D'EAU PHYSIOLOGIQUE). — Chez les 12 animaux ainsi traités, il s'est formé au foyer d'injection de l'huile un abcès sous-cutané à contenu caséux très riche en bacilles acido-résistants et qui devint apparent environ trois semaines après les inoculations. Cet abcès était très volumineux chez le dernier cobaye qui a été sacrifié après cent vingt jours ; la collection purulente atteignait encore le volume d'une noix bien qu'elle se soit fistulisée antérieurement. Chez les animaux sacrifiés à partir du quarantième jour, nous avons trouvé, à l'autopsie, outre l'abcès caséux développé dans la région inguinale où l'huile avait été injectée, des ganglions inguinaux et sous-lombaires hypertrophiés et également caséifiés. Les poumons étaient porteurs de nombreuses granulations à centre nécrosé. Sur les frottis du contenu de ces granulations, les bacilles acido-résistants étaient abondants. Le foie et la rate paraissaient normaux, mais les reins présentaient des cicatrices en saillie ou au contraire déprimées, reliquats de lésions antérieures provoquées par les bacilles qui avaient été inoculés par voie veineuse. Chez le cobaye sacrifié après trois mois, les granulations pulmonaires avaient l'aspect de grains de semoule cuite centrés par un point jaune opaque ; ces granulations étaient le siège d'un processus fibreux intense ; très dures, elles ne pouvaient être écrasées entre deux lames

(7) La technique des suspensions bacillaires dans l'huile est très simple : il suffit de prélever à la spatule une quantité de culture déterminée et de la broyer dans un mortier de porcelaine stérile avec le volume nécessaire d'huile versée goutte à goutte. L'émulsion ainsi obtenue est très stable.

qu'avec difficulté ; leur contenu révélait néanmoins encore une grande richesse en bacilles.

2° INJECTION D'HUILE DE PARAFFINE PAR VOIE PÉRITONÉALE (1 CENT. CUBE) ET INOCULATION SIMULTANÉE DE BACILLES P PAR VOIE VEINEUSE (5 MILLIGRAMMES DANS 1 CENT. CUBE D'EAU). — Tous les animaux sont morts en moins de trente-sept jours. A part les deux premiers qui moururent précocement d'infection intercurrente, tous présentaient des lésions péritonéales et pulmonaires très accusées. Ces lésions étaient identiques à celles que nous avons décrites chez les cobayes inoculés directement dans le péritoine avec une suspension de bacilles dans l'huile. La présence d'huile libre dans le péritoine a eu pour effet de fixer *in situ* les bacilles circulant par voie sanguine et tout s'est passé comme si nous avions procédé à une inoculation péritonéale d'une suspension bacillaire dans l'huile.

3° INJECTION PAR VOIE PÉRITONÉALE DE 1 CENT. CUBE D'HUILE DE PARAFFINE ET, QUINZE JOURS APRÈS, DE 5 MILLIGRAMMES DE BACILLES P INOCULÉS, A UN PREMIER LOT PAR VOIE VEINEUSE, A UN DEUXIÈME LOT PAR VOIE PÉRITONÉALE, ET A UN TROISIÈME LOT PAR VOIE INTRA-GANGLIONNAIRE. — Tous les animaux du premier lot moururent en moins de trente jours, ceux du deuxième en moins de dix-neuf, ceux du troisième en moins de trente-sept. Ils présentaient tous des lésions péritonéales et pulmonaires massives semblables à celles des cobayes de l'expérience précédente. A noter que le décalage de quinze jours entre l'injection de l'huile et l'inoculation des bacilles a eu pour effet de rendre l'apparition des lésions caséuses plus rapides que lorsque les deux injections étaient faites simultanément. Quelle que soit la voie utilisée pour inoculer les bacilles, ceux-ci vont se fixer, dans tous les cas, au niveau des foyers huileux.

4° INOCULATION DE 1 MILLIGRAMME DE BACILLES P PAR VOIE VEINEUSE ET INJECTION CONSÉCUTIVE DE 2/10 DE CENTIMÈTRE CUBE D'HUILE DE PARAFFINE PAR VOIE TRACHÉALE. — Les 6 animaux, objet de cette expérience, sont morts en moins

de vingt jours en présentant une pneumonie caséuse qui s'étendait à la plus grande partie des poumons et plus spécialement au droit. Il n'existait pas de lésions dans les autres organes, si ce n'est au niveau des reins où nous avons observé la présence des altérations produites par le bacille P inoculé par voie veineuse.

Témoins. — Les lésions que nous venons de décrire chez les animaux ayant reçu par des voies différentes deux injections, l'une d'huile, l'autre de suspension bacillaire dans l'eau physiologique, sont bien dues à la fixation des bacilles au niveau des foyers huileux. En effet, l'inoculation de bacilles P, sans huile, est incapable de produire des lésions ayant l'aspect et le siège de celles que nous venons de décrire. Nous nous sommes assuré que l'injection d'huile seule, en particulier par voie péritonéale ou intratrachéale, n'est également pas susceptible de créer des lésions importantes.

Chez les cobayes recevant 1 ou 2 cent. cubes d'huile de paraffine par voie péritonéale, il se développe, en quinze jours à trois semaines, des néo-formations caractéristiques : foyers d'huilome disposés en taches blanchâtres laissant voir par transparence leur structure aréolaire (chaque cavité étant remplie d'huile) et ne prenant dans aucun cas un aspect caséux. Ces foyers se constituent le long du bord libre de l'épiploon, autour de la rate, au niveau du péritoine pariétal, recouvrant le foie et les reins ; on les rencontre aussi parfois sur le mésentère. Ils persistent longtemps ; nous les avons retrouvés chez des animaux sacrifiés trois mois après l'injection d'huile, mais ils n'offrent jamais le développement ni l'aspect des énormes lésions caséuses massives que l'on observe chez les animaux inoculés à la fois avec de l'huile et des bacilles P. A signaler que chez la plupart des cobayes ne recevant que de l'huile de paraffine dans le péritoine, les huilomes développés au niveau de la séreuse restent très discrets et n'ont aucune tendance à la transformation scléreuse.

Lorsqu'on injecte par voie intratrachéale à des cobayes 0 c. c. 2 à 0 c. c. 3 d'huile de paraffine, il arrive souvent que certains des animaux ainsi traités meurent en un ou deux jours en présentant une hépatisation rouge massive des

poumons revêtant fréquemment un caractère hémorragique. Mais chez les animaux qui survivent à cette phase congestive aiguë on ne trouve, après quelques jours, aucune trace de l'injection huileuse, si ce n'est, parfois, quelques foyers d'infarctus en voie de résolution. Si on sacrifie les animaux au bout de plusieurs semaines, on note assez souvent une légère induration du tissu pulmonaire spécialement à la base du poumon droit où l'huile tend normalement à s'écouler. Exceptionnellement on observe chez quelques animaux sacrifiés après trois à quatre mois la présence de quelques taches blanches plus ou moins étendues à limites nettes, irrégulières, non caséifiées et de consistance indurée. Ces lésions siègent aussi surtout à la base droite. Rien ne rappelle en elles l'aspect de la pneumonie caséuse massive se constituant rapidement chez les cobayes auxquels on injecte des bacilles P par voie veineuse en même temps que de l'huile de paraffine dans la trachée.

Variations de l'action activante de l'huile de paraffine suivant l'espèce animale et l'espèce bacillaire.

Nous ne pouvons rapporter en détail les nombreuses expériences que nous avons faites chez des lapins, des poules et des rats blancs, afin de rechercher si l'action activante de l'huile de paraffine sur les lésions produites par des bacilles paratuberculeux dépend de l'espèce des animaux inoculés. Les expériences sur le lapin, confirmant les résultats obtenus sur le cobaye, ont été rapportées dans deux communications précédentes [21]. A quelques détails près dans la topographie des lésions, nous avons constaté que, chez le rat blanc et le lapin, l'inoculation de bacilles P en présence d'huile de paraffine donne les mêmes résultats que chez le cobaye. La poule a réagi avec beaucoup moins d'intensité ; nous n'avons obtenu que des lésions pulmonaires limitées, caséifiées, mais se sclérosant rapidement, quand nous injectons dans la trachée de l'huile bacillifère (8) ou encore quand nous inoculons par voie veineuse des bacilles en suspension aqueuse et que

(8) Nous avons inoculé jusqu'à 50 milligrammes de bacilles,

nous faisons suivre cette inoculation d'une instillation d'huile de paraffine pure par voie trachéale. Ces lésions, dans lesquelles les bacilles se raréfient assez rapidement, restent toujours localisées et ne retentissent pas sur la santé des animaux qui en sont porteurs. On voit donc que la multiplication des bacilles *in vivo*, au contact des gouttelettes huileuses est en partie sous la dépendance du milieu animal ; il n'est pas possible de rapprocher en tout point l'action de l'huile de paraffine sur le développement des bacilles dans l'organisme, de l'action favorisante de la même substance *in vitro* qui est mise en évidence dans les milieux synthétiques du type milieu de Söhngen.

L'activation par l'huile de paraffine des lésions produites par les bacilles du groupe paratuberculeux paraît s'exercer pour le plus grand nombre des souches, mais non pour toutes au même degré. Nous en avons étudié plusieurs à ce point de vue ; seule la souche Gaiginsky nous a donné des résultats très voisins de ceux de la souche P ; les autres souches ont fait preuve en présence d'huile de paraffine d'un pouvoir pathogène plus réduit mais, sauf pour une seule, la présence d'huile a intensifié les lésions dans une très grande mesure. Nos expériences ont été faites chez le cobaye à qui nous inoculons, par voie veineuse, 40 milligrammes de la souche à étudier, puis, aussitôt après, 1 cent. cube d'huile de paraffine dans le péritoine. Dans ces conditions, la souche Milch Moeller s'est montrée très pathogène, tous les animaux sont morts en moins de trois semaines avec des lésions péritonéales massives ; seule l'atteinte pulmonaire était plus discrète que celle que produit le bacille P inoculé dans les mêmes conditions. Il n'existait pas non plus d'épanchement pleural.

Les bacilles de Sabrazès et Le Chuiton (souches 83 et 6 a) et la souche de Bruynoghe ont fait preuve d'un pouvoir pathogène plus réduit. Deux tiers environ des animaux inoculés ont survécu indéfiniment. Ceux qui sont morts étaient porteurs de lésions péritonéales et pulmonaires peu accentuées, mais dans lesquelles les bacilles étaient présents en assez grand nombre. Les survivants sacrifiés après trois mois ne présentaient plus qu'un épaississement fibreux de l'épiploon et une gangue péricapulaire également libre sans foyers caséux.

Enfin la souche de bacilles acido-résistants provenant de mouches et qui possède des caractères saprophytes très accusés (développement beaucoup plus lent à 37° qu'à 20°) s'est révélée absolument dépourvue de pouvoir pathogène pour le cobaye, et cela aussi bien quand ces germes étaient inoculés en suspension dans l'eau physiologique que lorsqu'on les injectait en émulsion dans l'huile de paraffine. Il importe de signaler que cette souche se développe bien *in vitro* dans le milieu de Söhngen en présence d'huile de paraffine comme unique source de carbone.

Action comparée des « graisses » autres que l'huile de paraffine ou de substances irritantes diverses sur les lésions produites par des bacilles paratuberculeux.

On connaît l'action classique du beurre stérile ; nous venons d'étudier celle de l'huile de paraffine ; il nous restait à rechercher si d'autres substances de nature physique semblable possèdent les mêmes propriétés. En premier lieu, nous avons employé des graisses animales homologues ou hétérologues. En écrasant au broyeur Latapie des fragments de tissu adipeux de cobayes ou de lapins venant d'être sacrifiés, puis en plaçant les produits broyés à l'étuve à 43° pendant quelques minutes, nous avons pu recueillir, après filtration sur papier, des graisses pures ayant subi le minimum de manipulation. Toutes ces opérations ont été faites en prenant les précautions d'asepsie suffisantes pour qu'il soit inutile de procéder à une stérilisation des graisses ainsi obtenues avant de les injecter aux animaux.

Nous avons recherché le pouvoir fixateur et activant de ces graisses, chez le cobaye, vis-à-vis du bacille P. Dans une première expérience, on inoculait 1 cent. cube de graisse de cobaye par voie péritonéale, puis 5 milligrammes de bacilles par voie veineuse ; dans une seconde expérience, nous avons injecté dans un ganglion cervical 1/2 cent. cube de la même graisse contenant en suspension 5 milligrammes de bacilles. Les animaux de la première expérience sont morts spontanément entre le septième et le vingt-huitième jour ; ils

étaient porteurs de lésions péritonéales de caractère caséux, très riches en bacilles et assez semblables à celles que donnent les mêmes germes en présence d'huile de paraffine. Outre ces lésions péritonéales, il existait aussi des altérations pleuro-pulmonaires, de même ordre, mais moins marquées que celles que nous avons décrites chez les cobayes ayant reçu des bacilles P par voie veineuse et de l'huile de paraffine dans le péritoine : poumons congestionnés avec des granulations blanches qui se disposent par places en forme de damier, léger épanchement pleural clair, hypertrophie des ganglions trachéo-bronchiques et rétro-sternaux.

Les animaux inoculés par voie ganglionnaire sont morts en moins de trois semaines, amaigris et très dyspnéiques. Ils étaient porteurs de lésions caséuses massives des poumons.

Avec la graisse de lapin, les résultats ont été moins marqués qu'avec celle de cobaye. Aucune de ces deux graisses ne produit de lésions chez les animaux témoins. Il est curieux d'observer qu'une graisse homologue a fait preuve d'une action activante plus intense qu'une graisse hétérologue. Sans doute, les propriétés physiques du vecteur gras jouent-elles un rôle plus important que sa constitution chimique. Il est possible aussi qu'une graisse homologue soit mieux tolérée, donc plus lentement résorbée, qu'une graisse hétérologue et, par suite, exerce une action plus prolongée.

Le suif impur du commerce, préalablement stérilisé et injecté fondu et refroidi à 40° en même temps que le bacille P chez le cobaye, a exercé une action activante sur les lésions produites par ce germe, action assez semblable, mais moins intense que celle de la graisse de cobaye. Les animaux survivent parfois à la période aiguë de la maladie (1 sur 6).

Une substance de composition chimique différente de celle des graisses neutres, mais qui s'en rapproche par les propriétés physiques : la cire d'abeille, possède aussi une action activante, mais beaucoup moins forte que les substances que nous venons de passer en revue : 50 p. 100 de cobayes, inoculés par voie péritonéale avec 5 milligrammes de bacilles P émulsionnés dans 5 cent. cubes d'une suspension grossière de cire dans de l'eau physiologique additionnée de gomme

arabique, survivent indéfiniment. Les animaux qui meurent sont porteurs de gros nodules caséeux, riches en bacilles, répartis dans la séreuse et d'adhérences multiples des anses intestinales, adhérences qui acquièrent rapidement un caractère fibreux et qui ont été retrouvées encore après cinq mois.

Nous n'avons pas eu de résultats positifs par l'emploi d'un savon calcique. Ce corps a été utilisé en raison de ses parentés chimiques avec les graisses neutres. Les animaux inoculés avec un mélange de bacilles P et de suspension de savon calcique ont présenté des lésions péritonéales accentuées consistant en une inflammation aiguë de la séreuse, d'allure hémorragique chez plusieurs animaux, et aboutissant rapidement à une péritonite adhésive intense sans nodules caséeux. Les cobayes témoins étaient porteurs de lésions semblables.

Nous ne pouvons rapporter en détail toutes les expériences entreprises afin de déterminer si l'activation que produisent les substances grasses sur les lésions dues aux bacilles paratuberculeux peut être reproduite en injectant, en même temps que ces bacilles, des corps variés doués de propriétés irritantes.

Tour à tour ont été expérimentés : le talc, le kaolin, l'aleurone, le benzopyrène, le poivre, la poudre de lycopode. Les trois premiers corps ont déterminé l'apparition de lésions inflammatoires aiguës qui prirent dans quelques cas un aspect nodulaire et dans lesquelles les bacilles P inoculés en même temps et par la même voie (péritoine) se multipliaient plus ou moins activement. Toutes ces lésions ont évolué rapidement vers la sclérose, surtout celles produites par l'association kaolin-bacilles P. Rappelons que l'action du kaolin modifiant les altérations dues aux bacilles tuberculeux morts ou du BCG a été déjà étudiée par Kettle et a donné à cet auteur des résultats du même ordre que les nôtres [22].

Nous avons essayé l'action du benzopyrène associé au bacille P en injection péritonéale ou intraveineuse, chez le cobaye, le lapin et le rat blanc. Le benzopyrène (aux doses de 1 à 3 milligrammes) a été injecté en suspension colloïdale dans l'eau physiologique. On connaît l'action cancérigène de ce corps et nous l'avons employé en raison même de la nature particulière de l'irritation, d'allure chronique et lente, que sa

présence détermine dans les tissus. Nos résultats ont été entièrement négatifs.

La poudre de lycopode s'est montrée, par contre, douée de propriétés activantes très réelles. 3 sur 6 cobayes ayant reçu, dans le péritoine, 10 centigrammes de poudre de lycopode mélangés avec 10 milligrammes de culture de bacilles P (dans 2 cent. cubes d'eau physiologique) sont morts dans un délai de trois à sept semaines en présentant des lésions péritonéales massives. A l'autopsie, l'épiploon formait une grosse masse scléreuse soudant les anses à la paroi et truffée de nodules jaunes caséeux. La surface de la face inférieure du diaphragme, celle du foie, de la rate et des reins étaient parsemées de petites granulations à centre purulent. Il existait aussi un semis de granulations jaunâtres et de nodules caséifiés sur le mésentère. Enfin, on a noté chez deux cobayes mâles la présence d'une vaginalite suppurée dont le pus, ainsi d'ailleurs que le caséum des nodules péritonéaux, renfermaient de très nombreux bacilles acido-résistants, libres, isolés ou en petits amas et associés à des grains de lycopode non altérés. Il n'existait pas de métastases pulmonaires. Précisons que l'inoculation de poudre de lycopode seule (30 centigrammes) crée des lésions nodulaires discrètes réparties un peu partout à la surface de la séreuse et sans réaction périphérique. Bien que durables, ces lésions sont infiniment moins intenses que celles qui résultent de l'association bacilles-lycopode.

Une substance irritante capable, par sa présence, d'entretenir dans les tissus une inflammation prolongée, même faible, peut donc activer les lésions paratuberculeuses et donner ainsi des résultats analogues à ceux de l'huile de paraffine. Il y a lieu de penser que l'action activante de la poudre de lycopode résulte de la persistance de l'irritation due à cette substance, l'inflammation qui s'ensuit s'oppose à l'englobement rapide des germes par un tissu de granulation imperméable où la désintégration bacillaire s'effectuerait en vase clos.

Influence de l'huile de paraffine sur la multiplication *in vivo* des bacilles paratuberculeux.

Nous avons vu que les lésions dues à des bacilles paratuberculeux, exerçant leur action pathogène en présence de substances grasses, sont très riches en bacilles, contrairement à celles qui sont produites par les mêmes germes inoculés en suspension aqueuse. On peut en conclure que la présence de graisses libres dans les tissus favorise le développement *in vivo* des bacilles inoculés. Cette action favorisante sur la multiplication microbienne est établie par nos expériences de fixation des bacilles circulants au niveau des gouttelettes d'huile de paraffine présentes dans les tissus. Pour en démontrer plus nettement la réalité, nous avons eu recours à l'inoculation de très faibles doses de bacilles P émulsionnées dans l'huile de paraffine. A des doses de l'ordre de $1/5$ de milligramme et au-dessous, ces bacilles semblent dépourvus, d'une manière totale, d'action pathogène lorsque le vecteur d'inoculation est aqueux. Il n'en est pas ainsi si ces doses minimales sont injectées après avoir été incorporées dans l'huile.

Nos expériences ont été faites chez le cobaye. Les doses à inoculer étaient émulsionnées dans 0 c. c. 1 d'eau physiologique contenant 5 p. 100 de gomme arabique, puis mélangées avec 0 c. c. 4 d'huile de paraffine. Les inoculations ont été faites par voie ganglionnaire.

A la dose de $1/50$ de milligramme, 3 sur les 4 cobayes inoculés sont morts entre le dixième et le vingtième jour, présentant des lésions de même type et aussi riches en bacilles que celles des cobayes ayant reçu une dose cinquante fois plus élevée. Un seul animal survécut jusqu'au soixante-dixième jour. Il était également porteur de lésions pulmonaires importantes consistant en un semis de nodules offrant l'aspect de grains de semoule cuite, avec ou sans centre caséeux, et accompagnés de gros abcès à coque scléreuse enchâssés en plein parenchyme pulmonaire. La surface pleurale de ces abcès adhérait à la plèvre pariétale par des tractus fibreux qu'on dut sectionner pour détacher le poumon. Sur les frottis du contenu

de ces abcès, on a trouvé de très nombreux bacilles libres ou englobés dans des gouttelettes huileuses.

Avec des doses plus faibles de bacilles (de 1/100 à 1/10.000 de milligramme) la mort des animaux se produit plus rarement mais, après deux à trois semaines, ils sont tous porteurs de granulations pulmonaires d'autant plus nombreuses que la dose inoculée est plus forte. Le contenu de ces granulations est riche en bacilles. Les lésions pulmonaires évoluent lentement, comme celles du cobaye mort après soixante-dix jours dans l'expérience précédente ; elles aboutissent à la fibrose. Même avec la dose de 1/10.000 de milligramme le ganglion cervical inoculé se transforme toujours en une cavité remplie de pus et entourée d'une gangue fibreuse de péri-adénite. On peut donc supposer, et cela est vérifié par l'expérience, qu'il est possible d'en obtenir d'autres, moins accusées mais néanmoins très appréciables, en inoculant des bacilles incorporés dans de l'huile de paraffine à des doses inférieures à 1/10.000 de milligramme.

Ces expériences prouvent que les bacilles paratuberculeux peuvent se comporter comme des microorganismes virulents, capables de se multiplier activement et de produire des lésions graves susceptibles d'entraîner la mort de l'animal, à la seule condition d'être accompagnés au sein des tissus par une substance irrésorbable ayant les propriétés physiques des graisses, telle l'huile de paraffine.

Considérations générales au sujet de l'action activante des corps gras et des paraffines sur les lésions produites par les bacilles acido-résistants.

1° RENFORCEMENT DES PROPRIÉTÉS TOXIQUES DES CORPS MICROBIENS.

Les corps gras et les paraffines ont pour premier effet d'augmenter dans une mesure importante l'action toxique exercée *in situ* par les bacilles présents dans les tissus. Cette action toxique dont les effets se manifestent aux environs immédiats des foyers huileux bacillifères est sensiblement la même, que les germes soient vivants ou morts. Dans deux communica-

tions précédentes [21], nous avons montré, en effet, que des bacilles P tués par la chaleur et mis en suspension dans de l'huile de paraffine ou rencontrant dans l'organisme des gouttelettes d'huile libre donnent naissance, chez le lapin ou le cobaye, à des lésions semblables à celles que produisent ces germes inoculés vivants dans les mêmes conditions. D'autre part, les expériences de N. Rist, de Saenz et Canetti [23], ont établi que les bacilles tuberculeux morts enrobés dans une huile minérale ou dans de la paraffine solide peuvent produire des altérations étendues et créer des lésions métastatiques de caractère nodulaire, en particulier au niveau des poumons.

Le mécanisme de l'action activante des corps gras sur la production de tissu tuberculeux n'est pas actuellement éclairci. Nous devons nous borner à émettre quelques hypothèses à son sujet :

a) Cette action peut dépendre de l'extraction par l'excipient gras des lipoides bacillaires (9-10). Les recherches de Boquet et Nègre [24], de Sabin et son école [25], de Roulet et Bloch [26], en ce qui concerne les bacilles tuberculeux ; celles de Ray et Schippmann [27] et de Sabin [28], en ce qui concerne les bacilles paratuberculeux, ont établi, en effet, que certains lipoides extraits des corps microbiens par des solvants appropriés sont toxiques et susceptibles de déclencher une réaction tissulaire d'aspect tuberculeux lorsqu'on les injecte à l'animal.

Il est aisé de montrer que la macération de corps microbiens dans de l'huile de paraffine a bien pour effet d'extraire des substances bacillaires dont la nature lipoïdique est probable. Cela résulte de l'expérience suivante : des bacilles paratuberculeux ou tuberculeux morts et desséchés à l'étuve sont émulsionnés dans de l'huile de paraffine (10 centigrammes par centimètre cube) ; le mélange, placé à l'étuve à 37° pendant trois jours, est ensuite centrifugé, puis filtré à chaud sur bougie L 2.

(9-10) Dont les bacilles acido-résistants sont particulièrement riches : environ 22 p. 100 pour les B. tuberculeux virulents, entre 20 et 36 p. 100 pour plusieurs espèces de B. paratuberculeux. Les espèces microbiennes non acido-résistantes contiennent beaucoup moins de lipoides : *B. subtilis* : 4,4 p. 100 ; staphylocoque doré : 2,8 p. 100 (Long et Campbell, *Amer. Rev. Tuberc.*, 6, 1922, p. 636).

L'huile filtrée claire a acquis la propriété de donner naissance, quand on la fait tomber goutte à goutte dans une sérosité organique, à une pseudo-membrane qui entoure les gouttes d'une gaine translucide. Lorsqu'on détruit cette membrane par agitation, elle se reforme aussitôt. De l'huile de paraffine pure ne donne rien de semblable, mais de l'huile ayant dissous des lipoides bacillaires extraits par l'alcool-éther ou par l'acétone se comporte comme celle dans laquelle on a fait macérer des corps microbiens (11). Nous croyons pouvoir conclure de ce phénomène que l'huile bacillifère contient en solution des substances de nature indéterminée, très vraisemblablement lipoidique, et qui peuvent créer à la périphérie des gouttelettes huileuses *in vivo* des actions de surface intenses, susceptibles de jouer un rôle dans la formation, autour de ces gouttelettes, de tissu de granulation tuberculeux.

b) On peut supposer aussi que les bacilles incorporés dans des corps gras dont la résorption s'effectue lentement dans les tissus subissent *in vivo* une désintégration beaucoup moins rapide que celle qui s'opère pour les bacilles libres. On connaît l'affinité particulière des bacilles acido-résistants pour les corps gras, qui jouissent de la propriété de les capter au sein des suspensions aqueuses et de les retenir ensuite énergiquement. Cela résulte des expériences *in vitro* de S. et E. Mudd'29] et plus encore de nos recherches sur la propriété de l'huile et des graisses de fixer *in vivo* les bacilles circulant dans le sang et la lymphe. Du fait de leur enrobage gras dont ils n'ont pas tendance à se libérer, les germes participent à la lenteur de résorption de l'excipient par les tissus.

L'enrobage des bacilles dans les substances grasses gêne aussi leur phagocytose par les macrophages, notamment en raison des dimensions des gouttelettes huileuses qui renferment les germes. De ces deux facteurs : lenteur de la désintégration bacillaire et entrave de l'action de blocage par les histiocytes, qui sont d'ailleurs dépendants l'un de l'autre, résulte,

(11) Il s'agit du phénomène décrit par Ramsden : formation d'une membrane de coagulation à la surface de séparation d'une huile ayant dissous de la lécithine, du cholestérol, de la cire d'abeille... et portée au contact avec un liquide albumineux (sérum sanguin, sérosité péritonéale).

au maximum, l'entretien d'une excitation de nature toxique capable de mettre en jeu une réaction mésenchymateuse lente, mais de caractère progressif intense.

En assurant, en effet, la répétition à de multiples reprises d'une action toxique, même modérée, il est possible de déclencher une réaction tissulaire d'une intensité paraissant hors de proportion avec la nature de l'excitation. Nous avons montré dans des expériences antérieures [30] que si une seule injection intraveineuse, même à dose très élevée, de corps microbiens tués de bacilles paratuberculeux ne suffit généralement pas pour produire des lésions graves chez le lapin, il n'en est pas de même si l'on répète les injections de doses modérées ou faibles. On réalise dans ce cas un type particulier de « pneumonie blanche » (12) de caractère massif, constitué par un processus d'alvéolite desquamative entraînant l'obstruction de la grande majorité des alvéoles. L'analogie de ce type de lésions avec celui que produit l'huile bacillifère est évidente. Ainsi, avec le bacille P, l'inoculation en une seule injection, par voie veineuse, de 100 milligrammes de corps microbiens ne produit pas de troubles morbides apparents et le lapin inoculé survit indéfiniment. Mais si l'on répartit cette dose de 100 milligrammes en 10 inoculations de 10 milligrammes faites tous les trois jours, l'animal meurt en général avant la dernière injection, porteur de lésions pneumoniques extrêmement intenses. Le même phénomène se produit si l'on utilise des corps microbiens tués de bacilles tuberculeux virulents. Soit qu'elle mette en jeu un mécanisme d'hypersensibilité, soit qu'elle réalise un phénomène de sommation des excitations, la répétition des inoculations est donc susceptible de déclencher une réaction tissulaire très vive qui ne se produit pas à la suite d'une inoculation unique même à dose massive.

c) Doit-on incriminer une action irritante et toxique particulière aux substances grasses s'ajoutant à celle de même nature exercée par les corps microbiens ? Ce mécanisme intervient sans doute, mais dans une faible mesure. Nous avons

(12) L. NÈGRE et A. BOQUET. *Ces Annales*, 1930, **44**, p. 247 ; *ibid.*, **45**, p. 415.

vu, en effet, que l'huile de paraffine est bien tolérée par les tissus, et N. Rist a montré par l'étude histologique des altérations péritonéales produites chez le cobaye par une injection dans la séreuse d'huile de paraffine pure que ces lésions ne présentent pas un caractère sérieux [31]. Néanmoins elles sont très persistantes ; il en est de même pour celles qui sont produites par d'autres substances irritantes, telles que la poudre de lycopode, le kaolin et le poivre, qui renforcent aussi dans une certaine mesure le pouvoir pathogène des bacilles paratuberculeux. On peut donc supposer que l'action irritante exercée par les corps gras dans les tissus intervient dans le mécanisme d'accentuation des lésions paratuberculeuses mis en jeu par ces substances.

Chacune des trois hypothèses que nous venons d'émettre contient, sans doute, une part de vérité. La libération de produits toxiques extraits des corps bacillaires par un excipient gras, le ralentissement de la désintégration des germes protégés par une enveloppe huileuse, l'accroissement de l'action toxique des corps microbiens par suite d'une irritation due aux graisses elles-mêmes, autant de facteurs susceptibles d'expliquer cette action si particulière des substances grasses et des paraffines sur les lésions paratuberculeuses. Quel est, ou quels sont les facteurs prédominants ? Il semble que ce soient les deux derniers. Aucune preuve convaincante n'a, en effet, jamais été donnée jusqu'à présent du rôle pathogène que pourraient jouer les substances extraites par un vecteur gras à partir des corps microbiens. De l'huile de paraffine dans laquelle des bacilles ont macéré et qui a été séparée de ces germes par filtration sur filtre en verre d'Iéna « G 5,3 » se montre absolument inactive *in vivo*. Inversement, nous avons démontré que des bacilles dégraissés aussi complètement que possible par des extractions continues à l'aide de différents solvants des lipoides, y compris l'huile de paraffine bouillante sous pression réduite à 250°, sont presque aussi tuberculigènes lorsqu'on les inocule au cobaye que des corps microbiens non dégraissés [38]. Autant qu'on puisse juger par cette expérience, il apparaît que les composés toxiques dont l'action est exacerbée par la présence d'un excipient gras ne sont pas

de nature lipéidique, mais plus vraisemblablement protidique ou polysaccharidique. On peut aussi supposer qu'il s'agit de complexes chimiques comparables à ceux qui ont été mis en évidence pour d'autres germes pathogènes, tels les antigènes glucido-lipidiques de Boivin. Par là le mode d'action des bacilles acido-résistants se rapprocherait de celui d'autres espèces microbiennes beaucoup moins riches en lipéides et dont le pouvoir pathogène est également renforcé par l'enrobage en milieu gras.

Nous rappellerons à ce sujet qu'au cours de leurs recherches sur l'accroissement du pouvoir antigénique de certains germes par incorporation dans un excipient gras à base de lanoline, Ramon et ses élèves [33] ont observé que la présence de lanoline augmente d'une manière considérable l'inflammation locale produite chez le lapin ou le cobaye par une inoculation sous-cutanée de *B. diphtérique*, de staphylocoque ou de spores charbonneuses de virulence atténuée (premier vaccin). D'autres substances irritantes (gélose, alun...) jouent un rôle analogue à celui d'un excipient gras en facilitant « la reproduction et la multiplication de ces germes à l'endroit d'inoculation » et en réalisant « une résorption graduée des produits microbiens ».

2° ACTION DES GRAISSES ET DES PARAFFINES SUR LA CULTURE DES BACILLES DANS LES LÉSIONS.

Nous avons vu que l'action intensifiante que les substances de la nature physique des graisses exercent sur les lésions paratuberculeuses se manifeste aussi par une accentuation extrêmement marquée, bien qu'apparente, de la virulence bacillaire. Cela est établi, avec évidence, par l'apparition chez l'animal de lésions graves, généralisées et souvent mortelles, lorsqu'on inocule, en suspension dans de l'huile de paraffine ou dans de la graisse de cobaye, des bacilles paratuberculeux à des doses faibles qui seraient inoffensives si elles étaient introduites en suspension aqueuse.

Les bacilles inoculés en petit nombre se multiplient activement au sein des lésions contenant de l'huile ; la présence de ce corps dans l'intimité des organes rend donc possible un

développement *in vivo* de microorganismes qui sont naturellement inaptes à végéter dans les tissus vivants. Il résulte de la disposition spéciale des éléments microbiens que l'on trouve sur les coupes à l'intérieur et plus spécialement à la périphérie des gouttelettes d'huile, que le contact étroit des bacilles avec la paraffine semble nécessaire pour que leur multiplication puisse s'effectuer. Quant au mécanisme intime du rôle joué par les corps gras dans la pullulation des bacilles *in vivo*, il peut être interprété de différentes manières :

a) Le support huileux peut constituer un aliment pour les germes ; cela découle en ce qui concerne les huiles minérales du rôle qu'elles remplissent *in vitro* dans le milieu synthétique de culture mis au point par Söhngen et où elles constituent l'unique source de carbone assurant le développement microbien.

b) L'huile libre semble jouer en premier lieu un rôle de milieu d'échange au sujet de certaines substances nécessaires au métabolisme normal des bacilles. On connaît les exigences particulières en oxygène de tous les bacilles acido-résistants, pathogènes ou non [Novy et Soule (13), Webb, Boissevain et Ryder (14), Loebel, Schorr et Richardson (15)]. La privation d'oxygène entraîne un arrêt immédiat du développement. Or, les échanges gazeux s'effectuent parfaitement à travers une mince couche d'huile. Il n'en est pas de même, selon toutes probabilités, à l'intérieur du cytoplasme des phagocytes. Les expériences de Loebel, Schorr et Richardson sont en faveur d'un antagonisme entre les exigences respiratoires des monocytes et celles des bacilles acido-résistants, qui sont plus sensibles que les cellules aux effets de l'anaérobiose. Une accumulation de cellules inflammatoires paraît suffire pour absorber tout l'oxygène utilisable par les microorganismes et cela pourrait déterminer l'issue de la lutte entre eux et les éléments cellulaires. Mais ce n'est pas aux seuls besoins respiratoires que se limitent les exigences nutritives des bacilles paratuberculeux. Pour des raisons qui nous échappent en grande partie,

(13) *Jour. Infect. Dis.*, **36**, 1925, p. 168.

(14) *Amer. Review. Tuberc.*, **9**, 1924, p. 534.

(15) *Trans. Nat. Tuberc. Assn.*, **26**, 1930, p. 196 ; **27**, 1931, p. 205.

les acido-résistants saprophytes témoignent d'une grande sensibilité aux effets de la phagocytose, soit en raison d'une action nocive directe, fermentaire ou autre, des cellules inflammatoires à leur égard, soit plutôt par suite d'une incompatibilité de leur métabolisme avec celui des éléments réactionnels (16). La protection conférée par un enrobage huileux suffit pour que d'un maintien normal du métabolisme bacillaire résulte une multiplication active.

3° RAPPROCHEMENT ENTRE L'ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE DES BACILLES PARATUBERCULEUX ENROBÉS DANS DES GRAISSES OU DES PARAFFINES ET CELLE DES BACILLES TUBERCULEUX VIRULENTS.

La virulence artificielle dont font preuve de nombreuses espèces de bacilles paratuberculeux inoculés en suspension dans l'huile de paraffine dépend, nous l'avons vu, de deux facteurs principaux. D'une part, les propriétés réactionnelles des complexes toxiques qui diffusent à partir des corps microbiens vivants ou morts sont considérablement accrues par la présence du vecteur gras. D'autre part, la faculté de végétation *in vivo*, qui fait défaut aux bacilles acido-résistants saprophytes inoculés en suspension aqueuse, devient au contraire très considérable si ces mêmes germes sont protégés par une enveloppe huileuse. Il est manifeste que ces deux facteurs de la virulence d'emprunt que possèdent les bacilles paratuberculeux incorporés dans l'huile sont aussi les mêmes qui conditionnent la virulence réelle des bacilles tuberculeux inoculés vivants sans l'artifice d'une émulsion grasse.

Les propriétés tuberculigènes des bacilles tuberculeux virulents paraissent, en effet, sous la dépendance des substances toxiques de nature encore indéfinie qu'ils laissent échapper *in situ*, soit au cours de leur vie, soit pendant leur désinté-

(16) L'existence d'une action nocive directe des cellules inflammatoires pour les bacilles paratuberculeux est improbable en raison de la constatation si souvent faite que lorsqu'on inocule ces germes en suspension aqueuse, un certain nombre d'entre eux demeurent longtemps vivants dans les organes d'où on peut les isoler par culture.

gration *post mortem* (17). Les expériences de Corper et Lurie [34] et celles de Saenz et Canetti [23] tendent à lier étroitement la composition chimique des corps microbiens tués de bacilles tuberculeux et le pouvoir pathogène de ces germes pour une espèce animale sensible. C'est ainsi que, chez le lapin, les lésions produites par les bacilles morts introduits en suspension aqueuse (Corper et Lurie) ou, mieux encore, dans de l'huile de vaseline (Saenz et Canetti) sont beaucoup plus considérables avec les bacilles bovins virulents qu'avec les bacilles humains, normalement très peu pathogènes pour le lapin.

Mais à côté de ce facteur capital de la virulence il y en a un second plus important peut-être, c'est la propriété qu'ont les bacilles tuberculeux de se maintenir vivants et de végéter au sein des tissus (18). La végétabilité *in vivo* est d'importance primordiale, ainsi qu'en témoigne, pour certaines espèces de bacilles paratuberculeux, une dissociation entre un pouvoir toxique élevé et l'impossibilité, pour les bacilles, de se multiplier dans les tissus vivants. Le bacille P, dont le pouvoir pathogène est relativement grand pour un germe du groupe des acido-résistants saprophytes, se montre très tuberculigène pour le lapin lorsqu'il est inoculé tué et en suspension dans l'huile de paraffine. Son pouvoir toxique ainsi révélé est beaucoup plus considérable pour cet animal que celui d'un bacille tuberculeux humain classique. Néanmoins, le bacille P ne se

(17) Borrel pensait, le premier, que les bacilles morts sont responsables des lésions tuberculeuses qui seraient produites par des substances toxiques provenant des cadavres microbiens. Les recherches récentes sur l'action des corps bacillaires tués, inoculés en suspension huileuse, sont en faveur de cette hypothèse.

(18) Dans une communication à la Société de Biologie, en mars 1939, nous attirions l'attention sur l'importance de la végétabilité *in vivo* comme facteur de virulence en montrant que des bacilles paratuberculeux inaptes à toute culture dans l'organisme des cobayes ou des lapins, deviennent virulents pour ces animaux s'ils rencontrent dans les organes des gouttelettes d'huile minérale. Il en est de même pour les bacilles tuberculeux non virulents, dans les conditions normales, pour l'animal en expérience. Après avoir mis en lumière le rôle de la constitution chimique des corps bacillaires comme condition de la virulence des bacilles tuberculeux, Saenz vient, avec Canetti, et en recourant à d'autres arguments, de se ranger à notre opinion. — Ces *Annales*, 65, 1940, p. 13.

développe pas *in vivo* chez le lapin en l'absence d'huile de paraffine, tandis qu'un bacille humain inoculé, même à faible dose, se multiplie toujours avec une certaine activité dans les organes du lapin (Lurie [35]), et produit chez cet animal des lésions tuberculeuses très persistantes, bien qu'insuffisantes en général pour entraîner la mort. Une action toxique considérable exercée par des bacilles acido-résistants qui se désintègrent lentement au sein des tissus n'est donc pas suffisante pour conditionner, à elle seule, la virulence d'une espèce sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir également la capacité de végétation des microorganismes *in vivo*. Le facteur essentiel demeure la faculté pour les bacilles de trouver en certains points de l'organisme des conditions physico-chimiques compatibles avec un développement plus ou moins actif. Si ces conditions sont réalisées accidentellement pour une espèce microbienne, non virulente dans les circonstances normales, les bacilles de cette espèce peuvent acquérir un pouvoir pathogène très réel ainsi qu'en font foi les observations d'infection humaine spontanée par un bacille paratuberculeux. Dans les lésions, toujours localisées, qu'ils peuvent créer exceptionnellement sans être associés avec d'autres germes pathogènes, les bacilles acido-résistants saprophytes sont, en général, extrêmement nombreux. C'est donc que des conditions locales encore indéfinies peuvent se présenter rendant possible leur culture *in vivo*. Lorsqu'ils se sont abondamment multipliés en un point de l'organisme ils deviennent capables d'exercer une action toxique suffisante pour engendrer des altérations tissulaires importantes.

La culture de la plupart des germes non pathogènes est irréalisable *in vivo*. Cela paraît lié non pas tant à l'impossibilité pour ces germes d'utiliser les éléments nutritifs qu'ils trouvent dans le milieu intérieur (19), mais en premier lieu aux conditions physico-chimiques qu'ils rencontrent dans l'intimité des tissus par suite du jeu normal ou pathologique du métabolisme des cellules vivantes. Un enrobage dans des

(19) Ce n'est pas le cas, en particulier, pour les bacilles paratuberculeux qui se développent fort bien sur des fragments d'organes ou dans du sérum sanguin.

substances très lentement résorbables les met à l'abri de l'action exercée sur eux par les nodules inflammatoires et peut leur permettre de vivre, en quelque sorte en dehors de l'organisme, tout en empruntant aux liquides humoraux les matériaux nécessaires à leur croissance. Il s'agit là de conditions spéciales de parasitisme.

Résumé et conclusions.

1° Parmi les nombreuses espèces du genre *Mycobacterium* qui, en dehors de leur propriété fondamentale : l'acido-résistance des éléments microbiens, présentent toutes un certain nombre de caractères communs, on distingue le groupe dit des bacilles paratuberculeux. Ce groupe comprend des espèces très variées que rapproche seulement un caractère saprophyte résultant de leur ubiquité et de l'absence de pouvoir pathogène spontané.

2° S'il est assez fréquent d'isoler des bacilles paratuberculeux dans les produits de sécrétion de l'homme, il est exceptionnel d'observer des lésions reconnaissant comme unique agent pathogène un bacille de ce groupe. Nous en avons étudié un cas ; il s'agissait d'un abcès froid sous-cutané chez un nourrisson dont le pus contenait un très grand nombre de bacilles acido-résistants se développant rapidement sur tous les milieux, même non glycinés. Le pouvoir pathogène de ces germes pour le lapin ou le cobaye est des plus réduit. Les observations analogues sont rares ; elles ont toutes des traits communs : grande richesse des lésions en bacilles acido-résistants, absence de retentissement à distance du foyer d'infection habituellement unique, guérison spontanée. La porte d'entrée des bacilles est en général facile à retrouver. Malgré leur rareté, ces observations apportent la preuve que des bacilles paratuberculeux naturellement dénués de propriétés pathogènes peuvent, dans certaines circonstances, se multiplier *in vivo* et créer des lésions durables et marquées.

3° Le pouvoir pathogène expérimental des bacilles paratuberculeux pour les animaux de laboratoire, cobayes ou lapins, est très réduit ou nul. Certaines souches peuvent néan-

moins créer des lésions évoluant lentement et qui offrent l'aspect du tissu tuberculeux vrai sans en avoir l'évolution progressive. Quelle que soit, d'ailleurs, l'intensité de leur pouvoir pathogène, les bacilles paratuberculeux ne sont capables de créer des lésions apparentes que si on les inocule en nombre considérable. Ce fait découle de l'impossibilité pour ces germes de se multiplier, dans les conditions normales, à l'intérieur de l'organisme des animaux homéothermes.

4° Si des bacilles paratuberculeux appartenant à une espèce suffisamment pathogène sont inoculés après avoir été incorporés dans un corps gras surtout d'origine minérale (huile de paraffine), ils donnent naissance à des lésions très intenses et susceptibles de tuer l'animal en réalisant un tableau anatomique de tuberculose caséeuse massive.

5° L'action activante que des substances de la nature physique des graisses et spécialement l'huile de paraffine exercent sur les lésions paratuberculeuses peut aussi se manifester sans qu'il soit nécessaire d'inoculer l'huile et la culture mélangées. Le résultat est identique si on les injecte séparément, par deux voies différentes assurant leur rencontre dans l'organisme : au niveau des poumons, du tissu cellulaire sous-cutané ou des ganglions lymphatiques par exemple. En d'autres termes, les bacilles paratuberculeux circulants ont tendance à se fixer et à se multiplier abondamment au niveau des foyers huileux qu'ils rencontrent dans les tissus en créant *in situ* des altérations caséeuses graves, de même type que celles qui sont produites par de l'huile bacillifère inoculée en un seul temps. Les germes saprophytes introduits dans un organisme peuvent donc pulluler aux endroits où des conditions artificielles compatibles avec une vie intense des bacilles ont été réalisées.

6° Les substances grasses peuvent ainsi rendre possible une augmentation considérable, bien qu'apparente, de la virulence des bacilles paratuberculeux. Cela ressort clairement des expériences d'inoculation de très faibles doses de culture (1/100 de milligramme et moins) en association avec de l'huile de paraffine ou de la graisse de cobaye. On obtient ainsi des lésions graves, ayant tendance à la généralisation et souvent mortelles.

7° Certaines substances non grasses, mais douées de pro-

priétés irritantes assez marquées, sont aussi susceptibles d'aggraver les lésions produites par les bacilles paratuberculeux. Il en est ainsi notamment pour l'aleurone, le kaolin et surtout la poudre de lycopode. Mais l'intensité des altérations résultant d'une inoculation de ces substances associées à des bacilles paratuberculeux n'atteint jamais celle que créent les mêmes germes en présence d'huile de paraffine.

8° Le mécanisme encore indéfini de l'action des substances grasses et spécialement des paraffines sur les lésions paratuberculeuses donne lieu à plusieurs interprétations basées sur les constatations suivantes :

a) Les bacilles paratuberculeux qui ne se développent pas, dans les conditions normales à l'intérieur de l'organisme des animaux homéothermes, peuvent au contraire pulluler *in vivo* en présence des corps gras, même si le nombre initial des germes inoculés est très faible.

b) Ils créent alors des lésions tuberculo-caséuses étendues qui se constituent rapidement autour des foyers huileux bacillifères.

La présence de corps gras libres dans les tissus réalise donc des conditions physico-chimiques locales permettant l'entretien d'une vie active et la multiplication des bacilles. De la culture des germes ainsi rendue possible découle la production continue de substances toxiques libérées à partir des corps microbiens vivants ou morts et de nature encore indéterminée. Il s'ensuit une réaction mésoenchymateuse entretenue qui prend une intensité considérable en raison, sans doute, de la persistance de l'action toxique mise en jeu beaucoup plus que de son importance.

Le double mécanisme qui est constitué de la sorte : possibilité d'une culture microbienne *in vivo* et, par suite, réalisation d'une irritation tissulaire prolongée par les substances libérées à partir des corps microbiens est le même que celui qui régit la virulence des bacilles tuberculeux agissant sans adjonction d'huile de paraffine. Chacun des deux facteurs : végétabilité *in vivo* et toxicité des corps bacillaires conditionne la virulence. Une preuve en est qu'une souche de bacilles paratuberculeux peut présenter un pouvoir toxique considérable

sans être capable de végéter dans les tissus vivants en dehors de la présence d'huile. Une telle souche possède un pouvoir tuberculigène important lorsqu'elle exerce son action en association avec de l'huile de paraffine (propriétés toxiques des corps microbiens), mais elle est inapte à créer spontanément des lésions évolutives en l'absence de protection des bacilles par un enrobage gras.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] LANGE (B.). *Deutsche mediz. Woch.*, 1921, p. 558.
- [2] GORDON. *J. of Bact.*, **34**, 1937, p. 617.
- [3] GORDON et HAGAN. *J. of Bact.*, **36**, 1938, p. 39.
- [4] EICHBAUM. *Ergebnisse der Hyg.*, **14**, 1933, p. 82.
- [5] OPHÜLS. *J. of Med. Research.*, **41**, 1904, p. 439.
- [6] COBBETT. *Brit. Med. J.*, **2**, 1918, p. 188.
- [7] BEAVEN. *Amer. J. Dis. Child.*, **39**, 1930, p. 1270. — BEAVEN et BAYNES-JONES. *J. inf. Dis.*, **49**, 1931, p. 399.
- [8] BRUYNOGHE et ADANT. *C. R. Soc. de Biol.*, **111**, 1932, p. 1051.
- [9] LUBARSCH. *Zeitsch. f. Hyg.*, **31**, 1899, p. 187.
- [10] LIMOUSIN. *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 713.
- [11] MOELLER. *Centr. f. Bakt.*, 1^{re} partie, **30**, 1901, p. 513.
- [12] LAPORTE. *C. R. Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 667.
- [13] LANGE (B.). *Zeitsch. f. Hyg.*, **93**, 1921, p. 43.
- [14] PETRI. *Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*, **14**, 1898, p. 1.
- [15] KORN. *Centr. f. Bakt.*, 1^{re} partie, **25**, 1899, p. 532.
- [16] TOBLER. *Zeitsch. f. Hyg.*, **36**, 1901, p. 1.
- [17] BEZANÇON et PHILIBERT. *Congrès Intern. de la Tuberculose*, **1**, 1905, p. 148.
- [18] GRASSBERGER. *Münch. med. Woch.*, 1899, p. 341 et 382.
- [19] HAGAN et LEVINE. *J. of Amer. vet. Assoc.*, **81**, 1932, p. 723.
- [20] SARRAZÈS, LE CHUITON et LAPORTE (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **117**, 1934, p. 379.
- [21] LAPORTE (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **130**, 1939, p. 611 et 1170.
- [22] KETTLE. *J. of Path. a. Bact.*, **38**, 1934, p. 201.
- [23] SAENZ et CANETTI. *C. R. Soc. de Biol.*, **129**, 1938, p. 922 ; **131**, 1939, p. 436 ; *Presse Méd.*, n° 42, 1939 (séance du 27 mai).
- [24] BOQUET (A.) et NÈGRE (L.). *C. R. Acad. des Sciences*, 1924 (séance du 3 mars).
- [25] SABIN, DOAN et FORKNER. *J. of exp. Med.*, **52**, supplément n° 3, 1930.
- [26] ROULET et BLOCH. *Virchow's Archiv*, **298**, n° 2, 1936, p. 311.
- [27] RAY et SCHIPPMANN. *Amer. Rev. of Tuberc.*, **7**, 1923, p. 88.
- [28] SABIN. *Trans. Nat. Tuberc. Assoc.*, **27**, 1931, p. 195.
- [29] MUDD (S.) et (E.). *J. of exp. Med.*, **40**, 1924, p. 633 et 647 ; **46**, 1927, p. 167.
- [30] LAPORTE (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **131**, 1939, p. 931.

- [31] RIST (N.). *Ces Annales*, **61**, 1938, p. 121.
- [32] LAPORTE (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **133**, 1940, p. 63.
- [33] RAMON. *Rev. d'Immun.*, **4**, 1938, p. 5. — RAMON, RICHOU et STAUB.
Rev. d'Immun., **3**, 1937, p. 389.
- [34] CORPER et LURIE. *Amer. Rev. of Tuberc.*, **14**, 1926, p. 662 et 680 ;
15, 1927, p. 237.
- [35] LURIE. *J. exp. Med.*, **48**, 1928, p. 155.

PYOBACILLOSE GÉNÉRALISÉE MORTELLE CHEZ UN BERGER

par P. FORGEOT, P. HALBRON et M. LÉVV-BRUHL.

La maladie désignée sous le nom de pyobacillose et qui se rencontre dans les espèces animales bovine, caprine, ovine et porcine ne paraît pas jusqu'à présent avoir été signalée comme ayant contaminé l'homme. Une de ses formes les plus caractéristiques est constituée par la production de suppurations multiples à marche assez lente, accompagnée d'un état de cachexie progressive. Il nous a été donné récemment d'observer, chez un sujet exerçant la profession de berger, une affection réalisant ce tableau anatomo-clinique à évolution progressive avec abcès multiples, localisation prédominant aux poumons et aux reins, fièvre, asthénie et cachexie mortelle. Le microbe rencontré à l'état de pureté et en abondance dans chaque prélèvement *in vivo* nous a paru pouvoir être rattaché au groupe microbien agent de cette maladie chez les animaux, famille des Pyobacilles (*Corynebacterium pyogenes*) dont les propriétés essentielles sont le fait de se présenter comme de fins bacilles immobiles, Gram-positifs et de ne fournir de culture notable que dans les milieux contenant des substances albuminoïdes (ascite-sérum).

Si l'investigation microbiologique n'a pu, en raison des circonstances, être aussi approfondie que nous l'aurions souhaité, elle nous a fourni cependant des données précises. Ce sont ces faits que nous apportons ici après avoir brièvement résumé l'histoire de la maladie, qui a fait l'objet d'une communication à la Société médicale des Hôpitaux, et décrit les lésions constatées à l'autopsie.

C... (Félix), âgé de soixante-quatre ans, exerçant la profession de berger dans la Brie entre à l'Hôtel-Dieu, le 14 février 1939, pour signes d'affection pulmonaire avec tuméfaction dure de la paroi thoracique. Pas d'antécédents pathologiques notables sauf de la toux presque à

chaque hiver et un traumatisme récent du poignet droit. Depuis un mois environ, amaigrissement notable et voussure progressivement croissante sur la paroi thoracique ; le malade tousse, il a expectoré quelques crachats sanguinolents ; sa température vespérale est de 38°-38°5.

On constate dans la région mamelonnaire, s'étendant vers le bord antérieur de l'aisselle, une masse bosselée, dure, adhérente aux plans profonds, ne se mobilisant pas sur les côtes. La dureté de la masse avait fait penser à un ostéo-chondrome. A l'entrée du malade dans le service, il existe plusieurs points ramollis ; la peau est amincie par places, avec de l'œdème et nous hésitons entre le diagnostic d'une tumeur inflammatoire ou celui d'une suppuration d'origine profonde. Un examen radiologique antérieur avait montré l'existence d'une ombre étendue dans la région moyenne du poumon droit et sur les diverses radiographies nous retrouvons cette ombre qui paraît siéger au voisinage de la paroi. Les ombres costales ne sont pas modifiées. A l'examen physique, il existe au niveau de la région opaque du poumon de la matité et des râles humides. L'exploration des divers appareils ne montre rien d'anormal. Le 16 février, la tuméfaction paraît se ramollir davantage en certains points, le reste conservant une dureté ligneuse. Une ponction exploratrice dans un point ramolli permet de retirer une petite quantité de pus bien lié rouge brunâtre. Dans ce pus on trouve de petits amas de bacilles Gram-positifs à l'exclusion de tout autre germe. L'examen des crachats ne montre pas de bacilles de Koch et des recherches répétées de bacilles tuberculeux ont toujours été négatives.

La réaction de Bordet-Wassermann est négative, l'azotémie est de 0,45. Le nombre des globules rouges est de 4.000.000, avec 85 p. 100 d'hémoglobine. Le chiffre des globules blancs est de 12.000, avec 85 p. 100 de polynucléaires neutrophiles.

Le 27 février la masse thoracique se fistulise ; il s'écoule un pus assez peu abondant, blanc jaunâtre, bien lié, ne contenant pas de bacilles de Koch, mais des bacilles Gram-positifs analogues à ceux qu'on avait observés lors de la ponction.

Le 1^{er} mars, apparaissent deux nouvelles localisations : l'une développée brusquement sur l'avant-bras droit, allongée sur le bord cubital, semble adhérer à l'os, sans qu'on trouve cependant de modification radiologique du squelette. L'autre siège sur la joue gauche, au niveau de la branche montante du maxillaire inférieur. Une ponction ne retire qu'un peu de sérosité.

L'aspect de ces lésions multiples fait penser à la possibilité d'une mycose. Un traitement à l'iodure de potassium (5 grammes par jour) n'amène aucune amélioration. Au contraire, la tuméfaction antibrachiale devient fluctuante ; on en retire du pus contenant le même bacille Gram-positif. Puis la fistulisation s'y installe et apparaît en même temps au niveau de la joue.

A ce moment l'état général s'altère, l'amaigrissement est très marqué, le chiffre des globules rouges s'abaisse à 3.000.000.

Vers le 20 mars, des douleurs, puis une nouvelle tuméfaction apparaissent à la face antérieure de la cuisse droite. On trouve une masse ovoïde, allongée, semblant contenue dans le quadriceps fémoral et indépendante de l'os.

Les signes pulmonaires paraissent s'atténuer, cliniquement et radiologiquement. La température est sensiblement normale. Un essai de thérapeutique par les sulfamides ne donne aucune amélioration ; au contraire, l'amaigrissement augmente, le nombre des globules rouges tombe à 2.050.000 et on doit cesser ce traitement.

La tuméfaction de la cuisse augmente, s'accompagne d'un énorme œdème qui s'étend à tout le membre inférieur droit. Le 14 mai, une ponction ramène du pus brunâtre contenant toujours le même bacille. Une fistule se forme et une large incision évacue un énorme abcès, contenant du pus fétide. Il se produit une courte amélioration.

A la fin de mai, l'état s'aggrave, le malade maigrit de plus en plus, la température atteint 39°. Sur le corps apparaissent des taches purpuriques. Un œdème blanc envahit les deux membres inférieurs et la région lombaire.

Le 1^{er} juin, on découvre un petit épanchement pleural gauche, contenant un liquide clair à polynucléaires, sans germes à l'examen direct mais dont la culture donne le bacille Gram-positif déjà rencontré.

La cachexie devient extrême et le malade succombe le 4 juin après avoir présenté une contracture généralisée.

Pendant toute la durée de la maladie, les urines sont restées claires ne contenant ni sucre, ni albumine ; toutes les hémocultures ont été négatives.

LÉSIONS OBSERVÉES A L'AUTOPSIE : La plèvre gauche contient un épanchement peu abondant ; la plèvre droite est symphysée du sommet à la base.

Le *poumon droit* est rétracté au niveau de la partie antérieure, en un point qui correspond à l'abcès de la paroi thoracique. Le poumon présente en ce point un aspect cicatriciel. La sclérose s'étend jusqu'au hile. La base droite est hépatisée.

Le *poumon gauche* contient à la base un noyau péripleurique. A la partie moyenne un noyau a l'aspect d'un infarctus ; exsudat fibrineux dans l'interlobe.

Cœur. Adhérences péricardiques très serrées.

Végétations fibreuses au-dessus de la valvule tricuspide.

Le *foie* pèse 2.000 grammes, l'aspect est normal.

Rate atteinte de périsplénite, avec un *petit nodule en voie de suppuration*.

Le *rein droit* présente de l'œdème sous-capsulaire. *Abcès diffus au niveau d'une pyramide. Petits abcès disséminés.*

Le *rein gauche.* *Abondante collection suppurée*, d'odeur fétide autour du rein. Tout le pôle supérieur est transformé en une nappe purulente, d'aspect caséux.

La *dure-mère* est épaissie. Le liquide céphalo-rachidien est louche et sous tension ; les ventricules cérébraux sont dilatés.

Examen histologique : Le poumon droit montre des bandes de sclérose dense, entre lesquelles les alvéoles sont remplis d'exsudats cellulaires dégénérés et de pigment sanguin.

Le nodule siégeant au-dessus de la tricuspide est constitué par de petits abcès miliaires siégeant sous l'endocarde dissociant les fibres myocardiques.

Au niveau des reins, la suppuration a détruit le parenchyme rénal,

mais au pourtour de l'abcès, on voit les foyers inflammatoires se constituer autour des vaisseaux et dans les espaces intercellulaires, les glomérules et les tubes rénaux gardent leur aspect normal.

Dans les coupes d'organes, en particulier au niveau des abcès du rein, on trouve des amas de fins bâtonnets Gram-positifs, les uns homogènes, les autres granuleux, identiques à ceux qui avaient été rencontrés à diverses reprises dans le pus prélevé par ponction chez le malade.

ETUDE BACTÉRIOLOGIQUE.

I. EXAMEN MICROSCOPIQUE. — A l'examen direct on trouve, à l'état pur et en assez grande abondance, des bacilles nettement Gram-positifs ; ils sont disposés en petits amas, en paquets, « en pelotes d'épingles », extra-cellulaires. Les éléments microbiens sont de longueur inégale ; les uns courts, presque cocciformes, les autres plus ou moins allongés et présentant un aspect granuleux assez marqué. Ce sont des bâtonnets sensiblement plus fins que les bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques.

II. CULTURES. — Après ensemencement dans divers milieux, *ces germes ne se développent assez abondamment que dans ceux qui contiennent des sérosités* (sérum, ascite). Ils y donnent lieu à une culture appréciable au bout de quarante-huit heures sous forme de *grumeaux* adhérents aux parois du tube ou de *flocons* agglomérés au fond, ne troublant pas le milieu et ne se dissociant pas par agitation ; la richesse de la culture s'accroît progressivement jusqu'au cinquième ou sixième jour. L'ensemencement en conditions anaérobies (partie inférieure du tube de Hall) fournit une culture aussi riche sinon davantage que dans la portion aérobie. Les milieux dépourvus de sérosité ne donnent lieu qu'à un développement très maigre, non susceptible de repiquage en série. Il en est de même des milieux solides (gélose T, gélose-ascite) où l'on n'observe que de rares colonies très fines.

Pomme de terre : Pas de culture.

Gélatine : Développement très lent avec liquéfaction à 26°. En gélatine-sérum à 37°, développement assez rapide : le milieu reste liquide après enlèvement de l'étuve.

Sur *sérum coagulé*, le développement est très maigre, on ne note pas de liquéfaction du sérum, même après incubation à l'étuve prolongée une dizaine de jours.

La recherche de l'*indol* en eau peptonée-ascite est négative.

Fermente la plupart des sucres.

Le *lait* est coagulé tardivement (cinq jours).

Dans le *bouillon additionné d'hématies*, il y a lyse de ces éléments.

Au *microscope* les éléments microbiens provenant des cultures présentent le même aspect que ceux qui ont été rencontrés dans le pus à l'examen direct. On constate le pléomorphisme du microbe : éléments bacillaires isolés, éléments accolés parallèlement et formes en cocci. Ils sont immobiles, dépourvus de cils et de spores. La culture reste assez longtemps revivifiable (ampoules conservées huit jours à la glacière).

III. INOCULATIONS. — 1° Avec le pus de l'abcès :

Au *cobaye* : 1 cent. cube de pus par voie sous-cutanée, aucun effet appréciable.

Au *lapin* : 2 cent. cubes de pus par voie sous-cutanée restent sans effet notable.

A la *souris* : 0 c. c. 5 sous-cutané, aucun effet.

2° Avec la culture en bouillon-sérum (quarante-huit heures) :

Cobaye : 2 cent. cubes sous-cutané, pas d'effet.

Souris : 0 c. c. 5 sous-cutané, pas d'effet.

Lapin : 2 cent. cubes sous-cutané, présente un état de cachexie progressive débutant quatre jours après l'inoculation et amenant la mort en vingt-huit jours avec perte de poids de 350 grammes. A l'autopsie, pas de lésion viscérale appréciable, pas de suppuration, pas de cultures avec le sang ou les organes. Il est probable que, comme le suggère S. Bilal, les lapins ainsi inoculés succombent à une intoxication bien que la toxine ne puisse être mise en évidence par filtration sur bougie.

De même un *cobaye* inoculé par voie intra-péritonéale présente un état de cachexie progressive déterminant une perte de poids de 230 grammes en vingt-quatre jours. L'animal est alors sacrifié ; l'autopsie ne montre aucune lésion

appréciable sauf de la congestion du foie, sans suppuration. Les ensemencements des organes ne fournissent pas de culture.

D'autres inoculations furent tentées, certaines d'entre elles après addition à la culture d'une émulsion de *mucine*, substance qui permet de mettre en évidence le pouvoir pathogène expérimental de certaines bactéries (gonocoque, ménin-gocoque) ; toutes ont échoué.

Par la suite, ce même germe fut retrouvé chez notre malade à plusieurs reprises, à l'examen direct et à l'ensemencement, dans diverses suppurations, en particulier dans l'épanchement pleural ponctionné au début du mois d'avril. Par contre, les prélèvements effectués *post mortem* n'ont pas fourni de résultats valables du point de vue microbiologique, par suite de l'envahissement par des germes agoniques ou cadavériques, cependant l'examen histo-bactériologique mit en évidence dans les coupes des diverses lésions ce même microbe à l'état de pureté et en abondance.

Cette bactérie, par son aspect microscopique et ses dimensions, par ses caractères cultureux : *développement quasi nul en milieux ordinaires*, assez abondant en milieu additionné de sérosité, aspect grumeleux des cultures agglutinées dans le fond du tube, développement anaéro-aérobie, présentait des analogies frappantes avec un germe bien connu des vétérinaires car il joue un rôle important en pathologie animale, le bacille pyogène, *Corynebacterium pyogenes* dit encore bacille de Poels du nom d'un auteur qui l'a décrit comme agent pathogène des suppurations chez les bovidés (1897). Cependant, il convient de remarquer qu'il s'agit d'un bacille atypique ; en effet, il ne présente pas la propriété si caractéristique du bacille de Poels de liquéfier le sérum coagulé sous forme de petites cupules. Peut-être s'agit-il d'un germe qui, par son passage dans l'organisme humain, a perdu sa propriété de liquéfier le sérum ?

Souvenons-nous, comme le rappelle une publication récente de Balozet et Receveur, que le premier auteur, qui décrivit les bacilles pyogènes, fut un vétérinaire français, Lucet (1893) ; il distinguait formellement comme agents pathogènes des suppurations multiples chez les bovidés deux variétés de bactéries,

l'une protéolytique *B. pyogenes liquefaciens boris*. l'autre non protéolytique, le *B. pyogenes boris* ; cette dernière espèce, quoique plus rarement rencontrée, paraît bien être également en cause dans certains faits observés chez les animaux par Brown et Orcutt, Velu et Zottner, Balozet et Receveur. C'est à ce groupe que nous croyons pouvoir rattacher la bactérie isolée chez notre malade.

Rappelons que le *B. pyogenes* provoque aussi des suppurations chez le porc (Gripps, 1898), chez le bœuf (Künneman, 1898) et que c'est un agent infectieux rencontré assez fréquemment chez la chèvre (Olt, 1903 ; Poels, 1910), chez la brebis (Pütz, 1904). Chez le mouton (espèce animale qui nous intéresse particulièrement ici, étant donné la profession exercée par notre malade), le bacille pyogène engendre des abcès multiples ; c'est le *pyobacille du mouton* dont le rôle dans l'étiologie du « Mal de Lure » a été mis en évidence par Carré (1912) ; il avait été déjà signalé par Bridré dans l'infection ombilicale des agneaux (1905). Plus récemment, Descazeaux, au Chili, a observé des abcès à pyobacille, prédominant aux poumons, tant chez les agneaux que chez le mouton adulte.

L'action pathogène réalisée chez notre malade et le tableau anatomo-clinique de l'affection rapprochent encore ce microbe du *pyobacille* des animaux. D'après Ward, en effet, le bacille pyogène diffère des autres organismes pyogènes par le fait qu'il possède la singularité de stimuler la prolifération du tissu conjonctif pour former une masse d'aspect tumoral semblable à un tissu granuleux, puis amène, subséquent, dans ce tissu des changements nécrotiques conduisant finalement à la formation d'un abcès. De ce fait, la suppuration causée par le bacille pyogène suit un cours lent, chronique et le développement des lésions ressemble à celui des lésions produites par l'actynomycose ou la tuberculose. Ceci est à rapprocher des constatations faites chez notre malade pour lequel on avait discuté les diagnostics d'ostéochondrome et de mycose.

Comme son nom l'exprime, le pyobacille est une bactérie de la suppuration, des suppurations multiples ; en même

temps, il détermine un état de cachexie progressive qui peut prédominer, réalisant la cachexie ovine dite « El Roch » en Algérie, étudiée par A. Boquet en 1913 ; la localisation aux poumons, aux reins si frappante chez notre sujet se rencontre également en pathologie animale, cette dernière créant les pyélonéphroses décrites par Elderlen et par Ernst.

Les lésions endocarditiques ont, de même, été rencontrées chez l'animal, Simonelli les ayant signalées en 1936 chez les Bovidés.

Les analyses sérologiques sont venues confirmer, chez notre malade, le rôle de cette bactérie ; les réactions d'agglutination étaient impossibles à pratiquer, étant donné le caractère floconneux des cultures, spontanément agglutinées en quelque sorte ; mais la *fixation du complément* a été recherchée avec le concours de notre ami le Dr Demanche. Elle s'est montrée, pour le propre germe du sujet pris comme antigène, fortement positive, faiblement positive avec des émulsions microbiennes d'origine animale (porcine), négative avec une souche bovine. Quant aux échantillons ovins, nous n'avons pu nous en procurer en France en temps utile.

Seul faisait défaut parmi les caractères classiques le pouvoir protéolytique du germe ; mais, d'une part, le développement sur sérum coagulé était extrêmement maigre, d'autre part l'absence d'action protéolytique chez les souches d'origine ovine a été signalée par plusieurs auteurs qui en font même un caractère différentiel (Besson, Courmont et Panisset). De même paraissait manquer, à première vue, de façon à peu près totale, le pouvoir pathogène expérimental ; mais celui-ci est extrêmement variable suivant les échantillons de pyobacille éprouvés. Du reste, deux de nos animaux d'expérience : un lapin et un cobaye ont succombé à une cachexie progressive, sans suppuration qui nous a paru nettement en rapport avec l'inoculation microbienne, l'effet pathogène revêtant la forme d'une intoxication à marche lente. Des résultats expérimentaux du même ordre ont été obtenus par Boquet avec des germes isolés dans des cas de cachexie ovine, en Algérie. Grâce à l'extrême obligeance du professeur Rinjard, directeur du Laboratoire de Recherches de l'École d'Alfort, nous avons pu

procéder à des essais d'infection expérimentale du mouton (brebis et agneaux), mais les résultats en ont été entièrement négatifs.

Si le rôle de cette famille microbienne apparaît comme très important et étendu en pathologie animale, la contamination de l'homme, réalisant une pyohémie généralisée, ne semble pas avoir été signalée jusqu'à présent. Le seul cas d'infection humaine que nous ayons pu relever concerne un vétérinaire allemand, Habersang, qui a publié son auto-observation, mais la maladie s'est bornée à une sorte de « furonculose récidivante » dont la nature pyobacillaire n'a pu être que soupçonnée en raison des constatations microbiologiques à l'examen direct, sans confirmation par la culture et les épreuves sérologiques.

Dans le cas qui fait l'objet de cette étude, par contre, les caractères de cultures sont venus confirmer l'identification microbienne suggérée par l'aspect morphologique du germe ; d'autre part, l'allure anatomo-clinique de l'affection avait réalisé le tableau si particulier observé en pathologie animale. C'est ce qui nous a permis de l'envisager comme une observation de pyobacillose humaine dont l'origine professionnelle ne nous paraît guère pouvoir être mise en doute.

BIBLIOGRAPHIE

- BALAZET et RECEVEUR. *Archives Institut Pasteur de Tunis*, **29**, 1939, p. 316-338.
- BOQUET (A.). *L'hygiène de la viande et du lait*, octobre 1913.
- BOQUET (A.). Bacille pyogène, bacille de Gripps, pyobacille du mouton. *Traité de microbiologie de Nattan-Larrier*, **2**, Paris, Doin, 1934, p. 117-124.
- BRIDRÉ. *C. R. Soc. de Biologie*, **49**, 1905, p. 117-118.
- BROWN et ORCUTT. *Journ. of exp. Medicine*, **32**, 1920, p. 219-227.
- CARRÉ. *Ces Annales*, **26**, 1912, p. 281-299.
- COURMONT et PANISSET. *Précis de microbiologie*, Paris, Doin, 1914, p. 630-633.
- DESCAZEUX. *Revue générale de médecine vétérinaire*, **37**, 1928, p. 193-211.
- FORGEOT. *Traité des maladies infectieuses et contagieuses d'origine microbienne des animaux domestiques*, **2**, Paris, 1935, p. 557-568.
- GLAGE. *Handbuch der pathog. Mikroorganismen* de KOLLE et WASSERMANN, **6**, 1928, p. 590-596.

- GRIPPS. *Zeitschrift für Fleisch- und Milk-hygiene*, **8**, 1898, p. 166-173.
- HABERSANG. *Berliner thierartzl. Wochenschrift*, 1926, p. 262-265.
- HALBRON, LÉVY-BRUHL, LENORMAND, DI MATTEO et M^{me} NETTER. *Soc. méd. des Hôpitaux*, **63**, 1939, p. 1373-1376.
- LOVELL. *Journ. of Path. and Bacter.*, **45**, 1937, p. 339-352.
- LUCET. *Ces Annales*, **7**, 1893, p. 325-330.
- POELS. *Rapport over de Kalverziekte in Nederland*, Sgraven-Lage, 1899.
- SAID-BILAL. Contribution à l'étude du bacille pyogène de Poels. *Thèse médecine vétérinaire*, Paris, 1926.
- VELU et ZOTTNER. *C. R. Soc. de Biologie*, **115**, 1934, p. 17-19, 194-196.
- WARD. *Journ. of Bact.*, 1917, p. 619.

LA PNEUMOPATHIE LYMPHOGRANULOMATEUSE EXPÉRIMENTALE DES SOURIS BLANCHES

TRANSMISSION DE L'INFECTION PAR VOIE NASALE

Par R. SCHOEN.

(Institut Pasteur, Service de M. Levaditi.)

On sait que l'affinité élective du virus de la maladie de Nicolas et Favre pour les éléments d'origine mésodermique confère à cette affection le caractère d'une véritable réticulo-endothéliose. Quelles que soient les conditions expérimentales, le germe se développe au contact des tissus réceptifs, déterminant une réaction locale, riche en cellules lymphoïdes et histiocytaires. (Voir pour l'ensemble du problème : Jean Levaditi, *Thèse*, 1936, édit. Maloine.)

Or, ce processus anatomo-pathologique est accompagné, en outre, d'une apparition de petits corpuscules ronds et bien définis, considérés, actuellement, par de nombreux auteurs, comme représentant l'agent infectieux spécifique de la lymphogranulomatose inguinale. [E. Miyagawa et ses collaborateurs (1), Nauck et Malamas (2), Schoen (3), Cottini (4), Findlay, Mackenzie et Mac Callum (5), Favre (6) entre autres]. L'examen microscopique des organes lésés permet de préciser, en effet, que les granulo-corpuscules ont pour siège,

(1) MIYAGAWA, MITAMURA, YAOSI, NAKAJIMA, OKANISHI, WATANABE et SATO. *The Jap. Journal of Exp. Med.*, **43**, 1935, p. 723-733.

(2) NAUCK et MALAMOS. *Arch. f. Sch. und Tropenkrank.*, **41**, 1937, p. 537.

(3) SCHOEN (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 677 ; *idem.*, **128**, 1938, p. 135.

(4) COTTINI. *Arch. Italiano d. Med. exper.*, **4**, 1939, p. 959.

(5) FINDLAY, MACKENZIE et MAC CALLUM. *Trans. R. Soc. trop. med. Hyg.*, **32**, 1938, p. 183.

(6) FAVRE. *C. R. Soc. de Biol.*, **133**, 1939, p. 182.

surtout le cytoplasme, des éléments mésodermiques. Mais on les trouve également extra-cellulaires, soit enkystés, soit libres, groupés en amas dans les foyers inflammatoires et prolifératifs (lésions névraxiques et péritonéales chez les souris blanches, nodules réactionnels poradéniques chez le cobaye). Or, fait intéressant et qui, à notre avis, plaide tout particulièrement en faveur du rôle pathogène spécifique des granulo-corpuscules dans la maladie de Nicolas et Favre, c'est leur pullulation très abondante dans des tissus mésodermiques néoformatifs, n'appartenant pas à l'animal-hôte et contaminés par ce germe. Ainsi, comme nous l'avons montré, le sarcome d'Ehrlich, aisément greffable aux souris blanches et d'une évolution rapide, représente un excellent milieu pour le développement *in vivo* des corpuscules lymphogranulomateux (*loc. cit.*). Toutefois, quel que soit le tissu infectieux, la constance et l'abondance des éléments corpusculaires paraissent être en rapport étroit avec le stade évolutif de l'infection. On décèle facilement des corps caractéristiques sur coupes, d'une façon régulière, au début de la maladie expérimentale. Par la suite, et parallèlement au développement des lésions, les granulo-corpuscules subissent des altérations morphologiques involutives, de telle sorte qu'aux périodes tardives de l'affection, on ne trouve plus de formations corpusculaires nettement visibles (7), (8).

Nous avons continué ces recherches en vue d'établir le comportement de certains organes viscéraux, riches en éléments réticulo-endothéliaux, à l'égard de ces corpuscules spécifiques. Dans le présent Mémoire, nous apportons les détails concernant l'affection pulmonaire, déterminée par instillation nasale du virus. Nos essais ont été réalisés avec succès en utilisant la souris blanche, animal de choix pour l'étude morphologique du germe en question (9).

Rappelons que, en 1936, Caminopetros et Photakis ont décrit des lésions hyperplasiques du poumon, provoquées, chez le lapin et chez

(7) SCHOEN (R.). *Ces Annales*, **62**, 1939, p. 260 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **131**, 1939, p. 966.

(8) Cottini signale, cependant, qu'il a réussi à mettre en évidence, chez le rat, sur *frottis* de cerveau, des granulo-corpuscules cent huit jours après l'inoculation. *Arch. Ital. Med. speriment.*, **4**, 1939, p. 1019.

(9) SCHOEN (R.). *C. R. Acad. des Sciences*, **208**, 1939, p. 772.

le cobaye, par inoculation du virus de la maladie de Nicolas et Favre directement dans le tissu pulmonaire, par voie transcutanée (10). Plus tard, Haam et Hartwell ont repris l'étude histologique du problème, en se plaçant dans les mêmes conditions expérimentales. Ils ont confirmé qu'en fait, chez le lapin, les altérations anatomo-pathologiques du poumon paraissent être dues à l'introduction du virus lymphogranulomateux, tandis que la réaction chez le cobaye n'est pas spécifique (11). Nous avons obtenu des résultats analogues, en pratiquant, chez ces animaux, l'introduction du virus par voie nasale (12).

A. — LA PNEUMONIE LYMPHOGRANULOMATEUSE
PROVOQUÉE PAR INSTILLATION NASALE DU VIRUS CULTIVÉ
DANS DES NÉOPLASMES SARCOMATEUX.

1° VIRUS. — Les recherches qui font l'objet du présent travail ont été effectuées avec la souche *Kam*. (isolée et entretenue depuis neuf ans dans le service de M. Levaditi) associée aux éléments tumoraux sarcomateux. Du fait de la symbiose avec le tissu néoformatif, le virus se révèle particulièrement pathogène pour les animaux réceptifs (singes, souris, cobayes), et fournit, en outre, un antigène spécifique d'une valeur très élevée (13).

2° TECHNIQUE. — L'introduction de produits infectieux par voie nasale est précédée, habituellement, d'une anesthésie des animaux. Or, le virus lymphogranulomateux devient rapidement apathogène au contact de divers agents chimiques. Il nous a semblé nécessaire, en premier lieu, de définir la technique exacte de la contamination, en précisant surtout les moyens et le degré de l'anesthésie, compatibles avec la survivance du germe.

Voici les détails du procédé qui nous a donné les meilleurs résultats. Il est préférable d'employer de jeunes souris de 17 à 18 grammes. L'anesthésie à l'éther sulfurique, dosée autant que possible, est pratiquée à distance des muqueuses nasales, par un moyen très simple : un tube à essai, avec ouverture adaptée pour laisser passer le museau d'une souris, est rempli à moitié de coton cardé, sur lequel on dépose

(10) CAMINOPETROS et PHOTAKIS. *Bull. Soc. pathol. Exot.*, **28**, 1936, p. 8.

(11) HAAM et HARTWELL. *The Journ. of Tropical Med. a. Hyg.*, **40**, 1937, p. 219.

(12) SCHOEN (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **131**, 1939, p. 1209.

(13) SCHOEN. *Ces Annales*, **60**, 1938, p. 499.

un petit carré de coton hydrophile imbibé d'éther (0 gr. 1 de coton pour 0 c. c. 5 d'éther). Le tube ainsi préparé est posé et maintenu sur la tête de l'animal pendant une minute. Immédiatement après, on instille dans chaque narine 0 c. c. 1 de virus, à la concentration voulue. Pour les primo-contaminations, nous avons utilisé des suspensions de virus tumoral à 5 p. 100, débarrassées, préalablement, des cellules néoplasiques, soit par centrifugation, soit par simple sédimentation prolongée dans des tubes coniques. Les passages pulmonaires en série ont été pratiqués avec des tissus pulmonaires très finement broyés et suspendus dans l'eau salée isotonique, à la concentration de 2 p. 100.

3° EVOLUTION CLINIQUE DE L'INFECTION. — Les deux premiers jours, les souris ainsi infectées ne présentent aucun symptôme particulier. Les signes morbides débutent entre le troisième et le quatrième jour par une dyspnée plus ou moins prononcée. Les troubles respiratoires évoluent très rapidement et, les jours suivants, les animaux paraissent fortement atteints. Ils restent immobiles, sans toucher à la nourriture. A cette période de la maladie, d'une durée moyenne de quatre à six jours, un certain nombre d'entre eux succombent à l'infection. Entre le douzième et le quinzième jour, les symptômes cliniques commencent à s'atténuer, et les souris ayant survécu après la deuxième semaine, guérissent généralement. Elles sont apparemment rétablies vers le trentième ou le trente-cinquième jour, époque où tous les troubles morbides ont complètement disparu.

4° ETUDE HISTOLOGIQUE. — Les altérations pathologiques du poumon intéressent, au même degré, les alvéoles et la trame conjunctivo-vasculaire. La réaction pulmonaire se développe très rapidement pendant les premiers jours qui suivent la contamination. Après une courte période de *statu quo*, le processus pathologique se résorbe progressivement, et les animaux, examinés tardivement, présentent des poumons normaux. Les lésions pulmonaires aiguës sont accompagnées d'une pullulation abondante de corpuscules lymphogranulomateux caractéristiques. Avec la progression de l'infection, on observe les mêmes altérations morphologiques des granulocorpuscules qu'on révèle dans d'autres tissus contaminés.

Voici, à titre documentaire, les détails histologiques d'une des séries d'animaux, examinés à différentes époques de l'infection. Le matériel,

fixé au Dubosq-Brasil-Bouin, était traité par plusieurs méthodes de coloration. Les meilleurs résultats, pour l'ensemble des altérations (lésions inflammatoires et cellulaires, d'une part, mise en évidence des granulo-corpuscules, d'autre part), ont été fournis par la triple coloration de Unna.

Ajoutons que, dans le présent travail, nous ne tenons compte que des altérations pulmonaires strictement amicrobiennes.

Quinze heures après la contamination : Légère hyperémie du poumon et rares polynucléaires, groupés en foyers microscopiques, à disposition péribronchique. *Absence d'éléments corpusculaires caractéristiques.*

Vingt heures : Le réseau capillaire est distendu et gorgé de globules

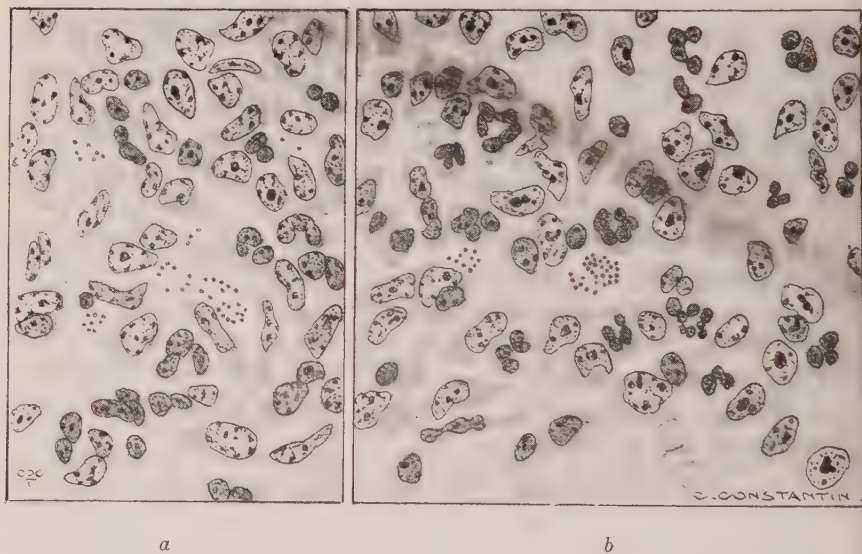


FIG. 1. — *a*, *Souris 41*. Sacrifiée trente-huit heures après l'inoculation. Gross. : 1/1.000; *b*, *Souris 34*. Sacrifiée cinquante-six heures après l'inoculation. Gross. : 1/1.000. Méthode de Unna.

rouges. Les cavités aériennes sont remplies d'hématies et de rares polynucléaires. Certaines cellules alvéolaires sont légèrement gonflées. *Pas de granulo-corpuscules.*

Vingt-quatre heures : Alvéolite hémorragique. Légère périvasculature et petits foyers polynucléaires autour de certaines bronches. *Aucune formation corpusculaire visible.*

Trente heures : Alvéolite assez prononcée. Petits manchons périvasculaires. Légère réaction péribronchique et lymphangite. *Absence de granulo-corpuscules.*

Trente-huit heures : Alvéolite catarrhale bien accusée. Hypertrophie et desquamation des cellules endothéliales. Périvasculature. Petits nodules interstitiels disséminés et circonscrits, constitués par des poly-

nucléaires et de rares lymphocytes. Quelques-uns de ces nodules renferment, au centre, de rares corpuscules colorés en bleu verdâtre foncé, ronds et bien définis, groupés en petites colonies. (Voir fig. 1 a.)

Quarante-quatre heures : Foyers de pneumonie, par endroit assez étendus, avec prolifération intense des éléments endothéliaux. Lymphomes périvasculaires. Présence de granulo-corpuscules caractéristiques, disposés en amas dans les zones inflammatoires.

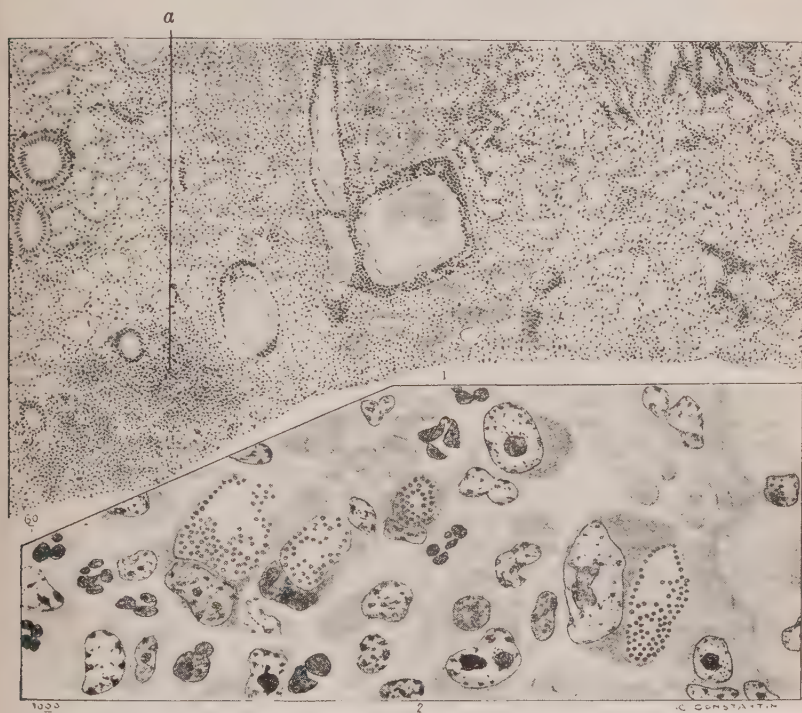


FIG. 2. — *Souris 832*. Sacrifiée le cinquième jour. 1, Pneumopathie lymphogranulomateuse. a, Foyer inflammatoire interstitiel. 2, Kystes contenant des granulo-corpuscules. Gross. : 1/60 et 1/4.000. Méthode de Unna.

Quarante-huit heures : Alvéolite exsudative intense. Nombreux nodules inflammatoires interstitiels et péribronchiques. Périvascularité aiguë. Corpuscules lymphogranulomateux parfaitement colorés, libres ou enkystés dans les foyers interstitiels.

Cinquante-six heures : Lésions pulmonaires très intenses. Nombreux foyers parenchymateux, par endroits confluent, constitués par des polynucléaires, en partie caryolysés, des lymphocytes et de rares macrophages. Tuméfaction et prolifération des cellules endothéliales. Périvascularité intense. Corpuscules en grand nombre, les uns inclus dans les histiocytes, d'autres enkystés, ou groupés en colonies dans les nodules interstitiels. (Voir fig. 1 b.)

Soixante-quatre et soixante-neuf heures : Lésions pulmonaires analogues à celles observées chez les animaux précédents, avec très nombreux granulo-corpuscules, dont un certain nombre semblent plus fins et légèrement allongés.

Trois à quatre jours : Altérations parenchymateuses très intenses avec nombreux nodules péribronchiques. Les bronches même paraissent indemnes, mais leur lumière est encombrée d'un exsudat riche en polynucléaires. Gros lymphomes périvasculaires. Nombreux granulo-corpuscules inclus dans les cellules alvéolaires tuméfiées; d'autres forment de volumineux kystes disposés dans les foyers inflammatoires interstitiels.

Cinq, six et sept jours : Alvéolite exsudative très étendue, riche en macrophages. Gros manchons périvasculaires, avec 8 à 10 couches cellulaires. Exsudat polynucléaire intrabronchique; les cellules bronchiques paraissent intactes. Nombreux kystes remplis de corpuscules (fig. 2).

Huit et dix jours : Lésions pulmonaires de même nature que chez les animaux précédents. Début de régression du processus interstitiel. Très nombreux kystes, les uns renfermant des corps fins, tassés à la périphérie et d'autres presque vides.

Douze et quinze jours : Certaines cavités aériennes sont en partie débarrassées de leur contenu, d'autres sont encore remplies d'exsudat. Les foyers interstitiels sont en état de liquéfaction. Périvascularite monocytaire. Vestiges de kystes avec rares éléments fins et pâles. Absence de formations rondes et bien définies.

Dix-huit et vingt jours : Trace d'alvéolite. Rares foyers interstitiels en voie de résorption. Légère périvascularite. Corpuscules absents.

Vingt-cinq et trente jours : Aucune lésion parenchymateuse; très légère périvascularite. Corpuscules absents.

Quarante, cinquante et soixante jours : Aucune lésion pulmonaire appréciable. Corpuscules absents.

Dans l'ensemble, ces données microscopiques sont comparables à d'autres observations enregistrées au cours de ces recherches.

Ainsi, trois phénomènes, évoluant simultanément, caractérisent la pneumonie lymphogranulomateuse aiguë : 1° alvéolite catarrhale, 2° inflammation nodulaire interstitielle avec périvascularite et, 3° pullulation de granulo-corpuscules.

Le processus anatomo-pathologique débute par une alvéolite hémorragique. Puis, des globules blancs en grand nombre apparaissent, en sorte que presque tout l'alvéole est rempli d'éléments sanguins. Les endothéliums alvéolaires sont fortement tuméfiés; les uns, desquamés, s'associent à l'exsudat hémato-leucocytaire, d'autres, par contre, sont en caryocinèse active.

Les lésions interstitielles se développent sous forme de nodules circonscrits, à disposition péri-capillaire, plus rarement autour des bronches. Au début, les foyers interstitiels

sont constitués par des leucocytes, avec une prédominance de polynucléaires ; ensuite le nombre de lymphocytes augmente considérablement, auxquels s'ajoutent des macrophages histiocytaires et des plasmocytes. La réaction autour des gros vaisseaux est constituée, également, d'éléments leucocytaires et conjonctifs. Dans certains cas, la périvascularite lymphocytaire est très prononcée, et on constate la formation de véritables lymphomes périvasculaires.

Ces altérations sont, généralement, bilatérales et intéressent au même degré tous les lobes pulmonaires. Cependant, on observe parfois des localisations uni-lobulaires, le reste du poumon ne présentant que des phénomènes congestifs. Dans d'autres cas, surtout chez des animaux ayant succombé à l'infection, on révèle une pneumonie généralisée massive et confluente. Les bronches et le tractus respiratoire supérieur, la trachée, paraissent indemnes. Leur lumière est souvent remplie d'un exsudat polynucléaire aseptique, mais le revêtement épithélial est intact. La réaction alvéolaire et interstitielle persiste rarement au delà du douzième ou quinzième jour. Les lésions se résorbent progressivement, et les souris, examinées cinq à six semaines après la contamination, présentent, généralement, des poumons presque complètement normaux. Néanmoins, dans certains cas, on observe encore, à ces stades tardifs, des vestiges de lésions (petits nodules cicatriciels et trace de périvascularite).

Quant à la *pullulation des granulo-corpuscules*, on la décèle dès le deuxième jour de l'infection. Ces granulo-corpuscules apparaissent sous forme de petits éléments ronds, réguliers et parfaitement colorés, disposés en petits amas dans les nodules inflammatoires. Leur nombre augmente très rapidement et, à partir du quatrième jour, on constate de très nombreux éléments, soit enkystés dans les foyers interstitiels, soit inclus dans les cellules endothéliales hypertrophiées. Les altérations involutives des granulo-corpuscules, dans le tissu pulmonaire, sont très précoces. Déjà au cours de la première semaine de la maladie, certains kystes renferment des éléments allongés et plus faiblement colorés. Par la suite, on ne distingue plus les corpuscules individuellement, mais on peut situer l'emplacement des kystes préexistants, d'après les

vacuoles vides disséminées dans les îlots lésés. A partir du moment où le processus inflammatoire régresse, le tissu pulmonaire paraît exempt de granulo-corpuscules nettement visibles.

5° TRANSMISSION EN SÉRIE. — Peut-on transmettre de souris à souris la pneumopathie sus-décrite ? Est-elle due, effectivement, au développement *in situ* du virus lymphogranulomateux ?

Pour répondre à ces questions, nous avons cherché à élucider les points suivants : a) la présence de l'agent infectieux dans le tissu pulmonaire, chez des souris primo-contaminées, à divers stades de l'affection ; b) la transmissibilité de l'infection pulmonaire en série ; c) la teneur éventuelle des poumons lésés en virus, au cours des passages successifs, et d) la valeur antigénique du même virus, entretenu par passages pulmonaires.

a) Pour la mise en évidence du virus lymphogranulomateux dans des poumons contaminés, nous avons pratiqué un double contrôle sur des animaux réceptifs. Après une épreuve bactériologique, les suspensions de tissu pulmonaire, préalablement lavées au sérum physiologique, étaient inoculées, d'une part, par voie transcranienne à des souris blanches, et, d'autre part, à des cobayes (région des ganglions inguinaux, voie transcutanée). On examine les animaux-tests aux périodes les plus favorables à l'appréciation des résultats histologiques.

Le tableau I se rapporte à une des trois expériences où l'infectiosité du poumon a été contrôlée à différentes époques après la contamination.

Les données, comparables d'un essai à l'autre, montrent l'interdépendance de la virulence du tissu pulmonaire et du stade évolutif de l'infection. En fait, dès la quarantième heure, le poumon se révèle manifestement virulent. La richesse en virus devient ensuite très marquée et se maintient telle pendant huit à dix jours. Parallèlement à la résorption du processus inflammatoire, on constate une atténuation progressive de la virulence, et les souris conservées plus de deux mois offrent des poumons totalement avirulents.

b) *Passages en série.* — Etant donné l'infectiosité transi-

TABLEAU I.

NUMÉROS	JOUR	ALTE'ATIONS MACROSCOPIQUES du poulmon		EXAMEN histologique du poulmon		VIRULENCE du tissu pulmonaire par inoculation transcutanée aux souris		VIRULENCE du tissu pulmonaire par passages sous-cutanés aux cobayes			
				Lésions	Corpuscules	Numéros et jour	Résultats	Numéros	Jour	Lésions locales	Infectiosité du tissu réactionnel par inoculation intra-cérébrale aux souris
675	S. 3 ^e j.	Congestion pulmonaire massive.		+++	+++	692, s. 5 ^e j. 693, s. 5 ^e j.	+++ +++	23 IX 24 IX	3 ^e j. S. 7 ^e j.	0 ++	736, s. 5 ^e j., ++ 731, s. 5 ^e j., ++ 742, s. 5 ^e j., ++ 743, s. 5 ^e j., ++
676	S. 4 ^e j.	Congestion pulmonaire intense.		+++	+++	696, s. 4 ^e j. 697, s. 4 ^e j.	+++ +++	25 IX 26 IX	S. 8 ^e j. S. 8 ^e j.	+++ +++	762, s. 7 ^e j., ++ 763, s. 7 ^e j., ++
677	4 ^e j.	Pneumonie massive.		+++	+++	742, s. 5 ^e j.	+++	29 IX	S. 8 ^e j.	+++	768, s. 5 ^e j., ++ 769, s. 5 ^e j., ++
678	6 ^e j.	Pneumonie massive.		+++	+++	713, s. 5 ^e j.	+++	30 IX	2 ^e j.	0	790, s. 5 ^e j., 0. 791, s. 5 ^e j., 0.
679	S. 9 ^e j.	Foyers de congestion.		+++	+	732, s. 5 ^e j.	++	33 IX	S. 8 ^e j.	+++	
680	S. 14 ^e j.	0		++	0	733, s. 5 ^e j. 748, s. 8 ^e j.	+ 0	34 IX 35 IX	S. 8 ^e j. S. 8 ^e j.	+++ 0	
681	S. 29 ^e j.	Rares foyers de congestion.		++	0	749, s. 8 ^e j. 770, s. 5 ^e j.	0 0	36 IX 37 IX	S. 8 ^e j. S. 8 ^e j.	0 0	
682	S. 36 ^e j.	0		±	0	771, s. 5 ^e j. 914, s. 5 ^e j. 915, s. 5 ^e j.	0 0 0	38 IX	S. 8 ^e j.	0	

toire du tissu pulmonaire, nous avons réalisé la transmission en série avec des poumons prélevés au stade aigu de l'affection, le cinquième ou le sixième jour. Voici les détails d'un tel essai :

Souris 575 est sacrifiée le cinquième jour après l'instillation nasale du virus lymphogranulomateux. L'examen microscopique du poumon montre une alvéolite exsudative intense, de gros lymphomes péri-

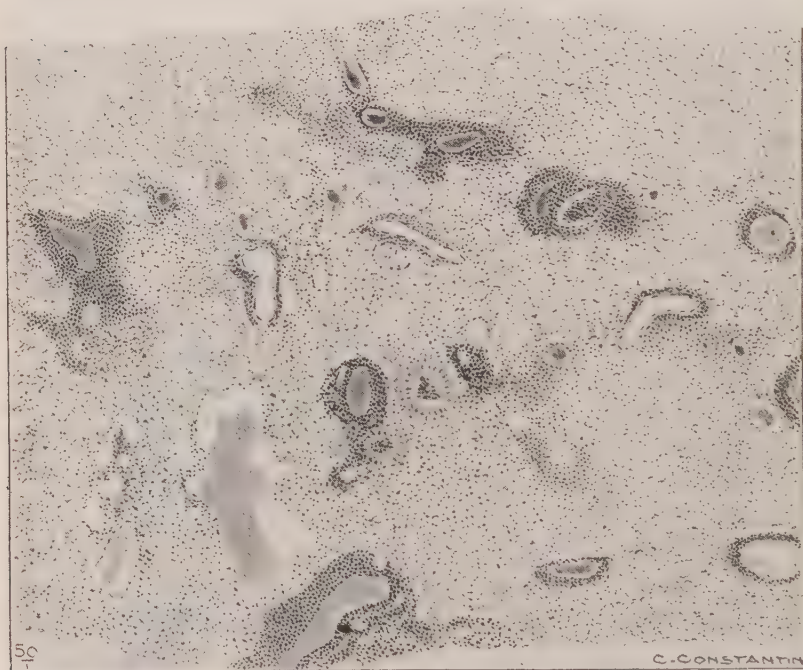


FIG. 3. — *Souris 741. Deuxième passage. Sacrifiée le septième jour. Pneumopathie. Gross. : 1/50. Méthode de Unna.*

vasculaires et des granulo-corpuses caractéristiques en grand nombre.

L'inoculation transcranienne du poumon détermine, chez deux souris, 692, 693, une névrite lymphogranulomateuse typique avec de nombreux corpuscules.

Premier passage pulmonaire : Les souris 694 et 695 reçoivent, par voie nasale, 0 c. c. 1 de la suspension pulmonaire à 1 · 50. La première souris est morte le quatrième jour. Elle présente des lésions pulmonaires intenses : nombreux foyers interstitiels, par endroits confluent, nodules péribronchiques et périvascularite. Très nombreux granulo-corpuses, les uns enkystés dans les foyers inflammatoires, d'autres inclus dans les éléments endothéliaux.

La deuxième souris (695) est sacrifiée le sixième jour. L'examen histologique du poumon révèle des altérations parenchymateuses intenses et de nombreux lymphomes périvasculaires. *Pullulation très abondante de corpuscules lymphogranulomateux.*

Le contrôle de l'infectiosité du poumon fournit des résultats fortement positifs.

Deuxième passage : La même suspension pulmonaire sert à conta-

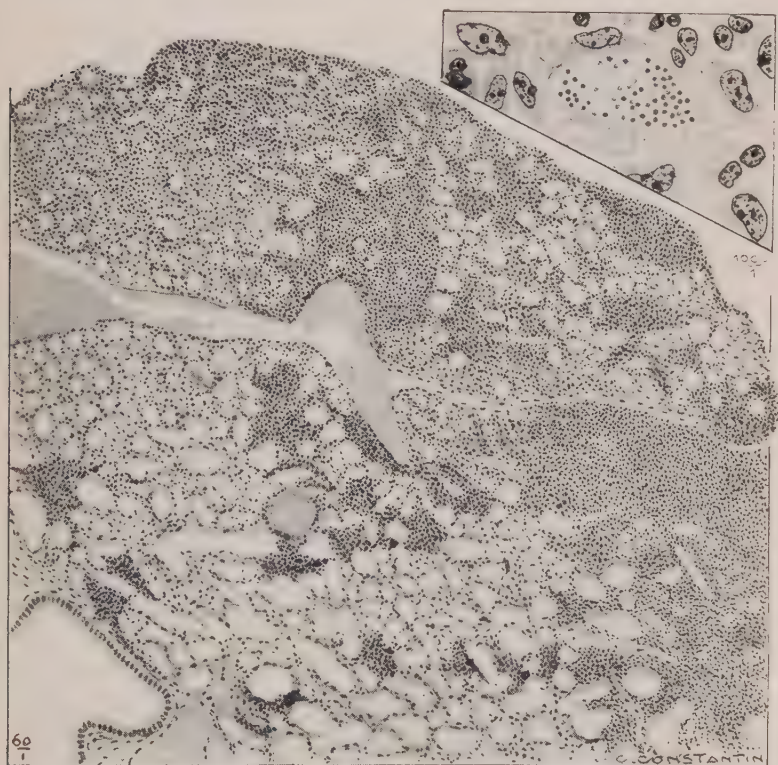


FIG. 4. — *Souris 990. Quatrième passage. Sacrifiée le cinquième jour. Pneumopathie et granulo-corpuscules enkystés. Gross. : 1/60 et 1/1.000. Méthode de Unna.*

miner 3 souris, par voie respiratoire. Sacrifiées le cinquième jour, elles montrent, toutes les trois, des altérations pulmonaires très intenses, du même type que les souris du passage précédent, *riches en corpuscules caractéristiques*. Virulence positive par inoculation transcrânienne (fig. 3).

On enregistre des données similaires pour les troisième, quatrième et cinquième passages (fig. 4).

Le tableau II résume une autre série, où le nombre des passages pulmonaires successifs était plus élevé (fig. 5).

L'ensemble de ces essais montre que la *pneumopathie lympho-granulomateuse aiguë* est facilement transmissible en série, de souris à souris. Le germe, entretenu par de tels passages pulmonaires, continue à être manifestement virulent

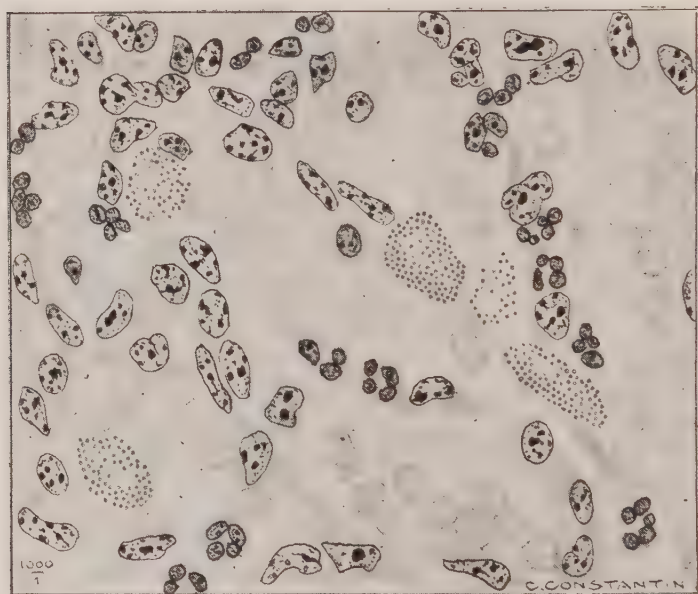


FIG. 5. — *Souris 126*. Huitième passage. Sacrifiée le troisième jour.
Gross. : 1/1.000. Méthode de Unna.

pour des animaux réceptifs, quelle que soit la voie d'inoculation.

c) *Teneur en virus des poumons contaminés.* — On sait que l'infectiosité des dilutions du virus lymphogranulomateux est inconstante et variable. Avec la souche névraxique *Kam...*, provenant soit de singes, soit de souris, on obtient des résultats partiellement positifs seulement avec des dilutions faibles (émulsion originelle à 10 p. 100 diluée à 1:10 et 1:20), alors que les dilutions plus étendues sont en général avirulentes (14).

(14) Il en est tout autrement lorsque le germe de la maladie de Nicolas

TABLEAU II.

PASSAGE	NUMÉROS	JOURS	EXAMEN histologique du poumon		VIRULENCE DU POUMON par inoculation transcranienne			
			Lésions	Corpuscules	Numéros	Jours	Lésions cérébrales	Corpuscules
1 ^{er}	831	6	+++	+++	892	5	+++	+++
					893	5	+++	++
1 ^{er}	898	5	+++	+++	954	5	+++	+++
					955	5	++++	+++
2 ^e	956	5	++++	++++	988	4	++++	+++
					989	4	+++	++
3 ^e	990	5	+++	++++	2	3	++	+++
					3	4	+++	+++
4 ^e	5	5	++++	++++	12	5	++++	++++
					13	5	++++	++++
5 ^e	25	5	++++	++++	55	4	+++	+++
					56	4	+++	+++
6 ^e	57	5	++++	++++	88	5	+++	+++
					89	5	+++	+++
7 ^e	90	5	+++	++++	120	6	+++	+++
					121	6	+++	+++
8 ^e	123	6	+++	++++	134	6	+++	+++
					135	6	+++	+++
9 ^e	136	6	+++	+++	160	5	+++	+++
					161	5	+++	++
10 ^e	163	5	+++	+++	196	5	+++	+++
					197	5	+++	++
11 ^e	198	5	+++	+++	224	5	+++	+++
					225	5	+++	++
12 ^e	226	5	+++	+++	240	5	+++	+++
					241	5	+++	+++
13 ^e	242	6	+++	+++	295	5	+++	+++
					296	5	+++	++
14 ^e	297	6	+++	+++	315	5	+++	+++
					316	5	++	++

Or, la richesse en virus des poumons contaminés est manifestement plus marquée que celle de l'encéphale.

Voici, à titre d'exemple, les données d'un essai de titrage :

1. *Titrage intracérébral* : La souris 4, provenant du quatrième passage, est sacrifiée le cinquième jour. Elle présente des altérations pulmonaires caractéristiques. Le poumon, finement broyé et suspendu dans de l'eau physiologique à 1 : 50, est centrifugé pendant dix minutes

et Favre se trouve en symbiose avec des éléments néoplasiques, en voie de prolifération. Nous avons établi que le virus (souche *Kam.*), cultivé *in vivo* dans des sarcomes d'Ehrlich, est encore fortement infectieux à des dilutions d'au moins à 1 : 1.000.

à 4.000 tours. Le liquide surnageant, dilué à 1:10, 1:50, 1:100, 1:200 et 1:500, est inoculé, par voie transcranienne, respectivement aux souris 14 et 15; 16 et 17; 18-19; 20-21 et 22-23; les souris 12 et 13 reçoivent, par la même voie, le liquide *non* dilué. Sacrifiés le cinquième jour, tous ces animaux, sans exception, aussi bien ceux qui étaient infectés avec le virus concentré, que ceux inoculés avec les dilutions correspondantes, présentèrent des lésions névraïques lymphogranulomateuses typiques et très prononcées, avec de nombreux granulo-corpuscules caractéristiques.

2. *Titrage pulmonaire* : Les mêmes dilutions du virus servent, d'autre part, à contaminer des souris par voie nasale. Les animaux sont sacrifiés le cinquième jour. L'examen microscopique de leurs poumons montre des lésions alvéolaires et interstitielles caractéristiques, riches en granulo-corpuscules. En outre, le contrôle de l'infectiosité de ces poumons s'est révélé nettement positif, par inoculation transcranienne aux souris neuves.

Deux autres expériences, effectuées avec le virus provenant du septième et du onzième passage, ont fourni, dans l'ensemble, des résultats analogues.

Il ressort de ces essais, qu'*au cours de nombreux passages en série, la teneur du tissu pulmonaire en virus est manifestement accusée*. Ainsi, le germe provenant du onzième passage était infectieux à la dilution d'au moins à 1:500.

d) *Valeur antigénique*. — D'autre part, le virus de la maladie de Nicolas et Favre, entretenu par de tels passages pulmonaires, fournit un antigène spécifique d'une valeur très élevée. Plusieurs échantillons, préparés avec du poumon infectieux, ont déterminé chez les sujets atteints de la maladie de Nicolas et Favre une intradermo-réaction typique et fortement marquée.

En résumé, la pneumopathie des souris blanches, provoquée par instillation nasale du virus lymphogranulomateux, est due à la pénétration et à la pullulation locale, quoique passagère, du virus. Aux stades aigus de l'infection, le tissu pulmonaire est très virulent. Avec des poumons prélevés à ce moment, on peut facilement réaliser de nombreux passages en série, de souris à souris.

6° DISPERSION DU VIRUS AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE L'INFECTION PULMONAIRE. — La maladie de Nicolas et Favre expérimentale est une infection généralisée. Quelles que soient les voies de contamination chez la souris blanche : intracérébrale,

péritonéale ou sous-cutanée (par greffe de fragments tumoraux infectieux), on décèle la présence du germe, au début de la maladie, dans le sang et dans la plupart des organes.

Or, l'infection pulmonaire se comporte de même. L'agent pathogène se localise, aux stades aigus de l'affection, dans le sang et dans la rate. L'infectiosité du sang est de courte durée, tandis que la rate conserve le germe plus longtemps. Toutefois, sa teneur en virus est généralement peu marquée. Quant au système nerveux central, il se révèle constamment stérile (voir tableau III). Signalons que l'examen histologique a

TABLEAU III.

NUMÉROS	JOURS	EXAMEN histologique du poulmon		VIRULENCE du poulmon	VIRULENCE du sang	SYSTÈME nerveux central		RATE	
		Lésions	Corpuscules			Lésions	Virulence	Lésions	Virulence
828	2	++	±	++	+++	0	0	0	—
829	4	++++	++++	++++	+++	0	0	0	++
830	6	++++	++++	++++	—	0	—	0	—
831	6	++++	++++	++++	+	0	0	0	+
832	8	++++	++++	++++	0	0	0	0	++
833	10	+++	+	+++	0	0	0	0	±
834	15	+	0	+++	0	0	0	0	±
835	20	+	0	+	0	0	0	0	0
839	35	±	0	0	0	0	0	0	0

révélé des lésions discrètes de la rate et des ganglions mésentériques. L'encéphale était exempt de toute altération pathologique.

B. — L'INFECTION PULMONAIRE RÉALISÉE AVEC LE VIRUS NÉVRAXIQUE.

L'infection pulmonaire est notablement moins prononcée, lorsqu'on utilise, dans les mêmes conditions expérimentales, du virus lymphogranulomateux entretenu par passages cérébraux (souche *Kam.*). Les souris contaminées avec cette souche, ne présentent que rarement des symptômes morbides bien apparents. Sacrifiées à divers intervalles après la contamina-

tion, elles montrent, néanmoins, des altérations pulmonaires du même type que celles relatées ci-dessus. Les lésions alvéolaires sont peu étendues, le plus souvent unilatérales. Par contre, la réaction conjonctivo-vasculaire est habituellement généralisée, mais les foyers nodulaires sont circonscrits et séparés les uns des autres par du parenchyme normal. Le développement des granulo-corpuscules dans de tels poumons paraît irrégulier et peu abondant. A la période aiguë de l'affection, entre le troisième et le sixième jour, on les décèle, soit formant de petits kystes dans les nodules interstitiels, soit inclus dans les cellules alvéolaires. Dans certains cas, on n'observe que de rares éléments caractéristiques ; par contre, dans d'autres cas, le poumon, manifestement lésé, est totalement dépourvu de granulo-corpuscules spécifiques.

L'infectiosité du tissu pulmonaire a été contrôlée par les mêmes procédés que ceux utilisés dans les essais précédents (voir tableau IV). Au cours de la première semaine de l'infection, le tissu pulmonaire est régulièrement virulent. Ensuite, on constate une stérilisation progressive, et à partir du douzième au quinzième jour, les résultats sont généralement négatifs. La transmission en série peut être réalisée comme dans les essais avec le virus tumoral, à la condition de prélever le poumon au début de l'infection. Au cours de nombreux passages successifs, nous avons observé ainsi des altérations pulmonaires caractéristiques et infectieuses.

Il en est de même de l'antigène préparé avec les poumons des animaux appartenant à ces séries. A plusieurs reprises, il était actif et spécifique.

Ajoutons que la généralisation de l'infection, chez des souris contaminées avec la souche névraxique, est peu marquée. Quel que soit le temps d'examen, la rate et le système nerveux central se révèlent exempts du virus, alors que le sang est faiblement virulent au cours de la première semaine de la maladie (voir tableau V).

C. — ACTION DU VIRUS LYMPHOGRANULOMATEUX INACTIVÉ.

Nous avons complété ces recherches par l'étude du comportement du virus lymphogranulomateux tué. D'une part, nous avons utilisé l'antigène névraxique simien (émulsion

TABEAU IV.

NUMÉROS	JOURS	ALTÉRATIONS MACROSCOPIQUES du poumon	EXAMEN histologique du poumon		VIRULENCE du tissu pulmonaire par inoculation transcranienne aux souris		VIRULENCE du tissu pulmonaire par passages sous-cutanés aux cobayes			
			Lésions	Corpuscules	Numéros et jour	Résultats	Numéro	Jours	Lésions locales	Infectiosité du tissu réactionnel
621	2	0	++	0	631, s. 6 ^e j.	++	43 IX	6	0	
622	3	Légère congestion.	++	0	632, s. 6 ^e j.	++	44 IX	6	0	
623	4	Foyers de congestion.	++	+	633, s. 5 ^e j.	++	45 IX	7	++	728, s. 5 ^e j., ++
624	5	Congestion pulmonaire.	++	+	634, s. 5 ^e j.	++	46 IX	7	++	729, s. 5 ^e j., ++
625	6	Multiple foyers de congestion.	+++	+	635, s. 5 ^e j.	++	47 IX	7	++	724, s. 5 ^e j., ++
			+++	+	636, s. 5 ^e j.	++	48 IX	7	++	725, s. 5 ^e j., ++
			+++	+	636, s. 5 ^e j.	++	49 IX	6	++	726, s. 5 ^e j., ++
			+++	+	687, s. 5 ^e j.	++	20 IX	s. 8	0	727, s. 5 ^e j., ++
626	8	0	++	0	690, s. 5 ^e j.	0	21 IX	7	0	
627	11	0	+	0	691, s. 5 ^e j.	0	22 IX	7	0	
628	15	0	+	0	740, s. 5 ^e j.	0	27 IX	8	0	
					744, s. 5 ^e j.	0	28 IX	8	0	
					730, s. 5 ^e j.	0	31 IX	8	0	
					731, s. 5 ^e j.	0	32 IX	8	0	

TABLEAU V.

NUMÉROS	JOURS	EXAMEN histologique du poulmon		VIRULENCE du poulmon	VIRULENCE du sang	SYSTÈME nervex central		RATE	
		Lésions	Corpuscules			Lésions	Virulence	Lésions	Virulence
795	1 1/2	0	0	0	0	0	0	0	0
796	4	++	±	+++	+	0	0	0	0
797	6	+++	+	+++	±	0	0	0	0
798	8	+++	0	0	0	0	0	0	0
799	11	++	0	+	0	0	0	0	0
800	13	±	0	0	0	0	0	0	0
801	15	±	0	0	0	0	0	0	0
802	20	0	0	0	0	0	0	0	0
803	30	0	0	0	0	0	0	0	0
804	42	0	0	0	0	0	0	0	0

cérébrale à 10 p. 100, chauffée deux fois, pendant une heure à 56°), et, d'autre part, le virus pulmonaire formolé, ou inactivé par la chaleur. Or, l'introduction intranasale de ces prépara-

TABLEAU VI.

NUMÉROS d'antigène pulmonaire	ÉPREUVE INTRACÉRÉBRALE				ÉPREUVE PULMONAIRE				VIRULENCE du poulmon avant le chauffage
	Numéros	Jours	Lésions	Corpuscule	Numéros	Jours	Lésions	Corpuscule	
623	92	5	0	0	94	6	Hypérémie lég. œdèm.	0	++++
	93	5	0	0	95	6	Hypérémie lég. œdèm.	0	
831	96	5	0	0	98	6	0	0	++++
	97	5	0	0	99	6	Œdème.	0	

tions, effectuée dans des conditions expérimentales identiques aux précédentes, n'a provoqué aucune réaction pulmonaire.

Le tableau VI résume un essai, où l'action du germe a été contrôlée comparativement avant et après l'inactivation. Tan-

dis que le virus non chauffé s'est montré fortement infectieux, soit par inoculation transcranienne, soit par instillation nasale, le même germe, chauffé à 56° pendant quarante minutes, a fourni des résultats totalement négatifs, quelle qu'ait été la voie d'inoculation.

CONCLUSIONS. — *Le virus de la maladie de Nicolas et Favre offre, chez la souris blanche, une affinité élective pour le tissu pulmonaire. Instillé par voie nasale, l'agent infectieux se localise dans le poumon et pullule in situ. L'infection pulmonaire est transmissible en série de souris à souris. Lorsqu'on s'adresse à une souche hautement pathogène, la contamination intra-nasale détermine une pneumopathie fortement accusée, souvent mortelle, caractérisée par une alvéolite exsudative très étendue et une réaction conjonctivo-vasculaire intense. Le processus anatomo-pathologique est accompagné d'un développement abondant de corpuscules lymphogranulomateux. Leur aspect morphologique, de même que leurs affinités tinctoriales, sont en relation avec le stade évolutif de l'infection. Dans le poumon (il en est de même pour les autres tissus réceptifs infectieux), les granulo-corpuscules ont pour siège les éléments réticulo-endothéliaux.*

La nature de la réaction du tissu pulmonaire, suivie de l'apparition des formations corpusculaires spécifiques, confère à la pneumopathie lymphogranulomateuse un aspect microscopique caractéristique. La contamination des souris blanches, par voie respiratoire, peut être utilisée avantageusement pour la mise en évidence du germe dans des produits infectieux, au même titre que les inoculations transcraniennes.

ÉTUDE SUR LES BACTÉRIÉMIES APRÈS ABLATION DES AMYGDALES ET DES VÉGÉTATIONS ADÉNOÏDES

par M. MILLET et M. VAN EYCK.

*(Service d'Oto-rhino-laryngologie de l'Hôpital universitaire
Saint-Pierre, à Bruxelles [Prof. : VAN DEN BRANDEN].)
(Laboratoire de Recherches cliniques de l'Hôpital universitaire
Saint-Pierre, à Bruxelles [M. MILLET].)*

En 1925, Seifert [1] montra que des interventions chirurgicales très variées provoquaient dans 40 p. 100 des cas environ, une bactériémie transitoire, décelable par l'hémoculture. Il observa ce phénomène au cours et à la suite d'opérations faites dans des milieux qui, comme le tube digestif, hébergent normalement des germes commensaux ; il l'observa aussi après des interventions sur des tissus ou des organes, habituellement stériles, mais infectés au moment même de l'intervention par des microbes pathogènes ou saprophytes ; il put voir, enfin, que le pourcentage d'hémocultures positives était d'autant plus élevé que l'opération était plus sanglante et s'accompagnait d'une plus forte attrition des tissus.

Divers auteurs confirmèrent bientôt les constatations de Seifert : Lehman [2], en 1926, pour des curettages utérins ; Scott [3], puis Barrington et Wright [4] pour des opérations sur les voies urinaires ; Okell et Elliott [5] pour les avulsions dentaires ; Van der Hoeden [6] enfin pour des interventions diverses. Il est juste de dire que dès 1913, Röhmer [7] avait signalé le même phénomène après des curettages digitaux de la matrice et qu'en 1923, Herbert Brown [8] avait montré que l'appendicectomie peut provoquer le passage de certains germes intestinaux dans le sang circulant. Mais ces derniers travaux ne trouvèrent, semble-t-il, guère d'écho.

Parmi les interventions chirurgicales les plus courantes, l'amygdalectomie et l'ablation des végétations adénoïdes

paraissent, au moins *a priori*, réunir les conditions énoncées par Seifert pour provoquer une bactériémie. D'assez nombreux auteurs se sont d'ailleurs attachés à le vérifier. Chose curieuse, les résultats qu'ils ont obtenus sont contradictoires : certains d'entre eux ont cru pouvoir pleinement confirmer la thèse générale de Seifert : ce sont d'abord Schwartz et Frisch [9], puis Bartlett et Pratt [10], Fischer et Gottdenker [11], Schell [12], Mittermaier [13] et Hulk [14]. D'autres, Hamilton Southworth et Carlyke Flake [15] ont, comme les auteurs précédents, obtenu un certain nombre d'hémocultures positives après amygdalectomie ; mais, pour des raisons diverses, à la fois théoriques et pratiques, ils ont estimé que leurs recherches, pas plus d'ailleurs que celles de leurs prédécesseurs, n'apportaient la preuve irréfutable que ces résultats fussent dus à l'intervention elle-même. Enfin, quelques auteurs, comme Ruben Epstein [16] et Wirth [17] n'ont obtenu que des résultats négatifs.

En vérité, si l'on dépouille ces divers travaux, sans même s'arrêter à la technique bactériologique proprement dite, on constate que les méthodes adoptées par leurs auteurs varient beaucoup. Les règles qui, par exemple, président au choix des malades diffèrent d'un mémoire à l'autre au point de rendre leurs résultats difficilement comparables entre eux : certains auteurs se sont adressés de préférence à des malades atteints d'amygdalite aiguë ou subaiguë ; d'autres, au contraire, ont soigneusement éliminé ces cas, car la culture de leur sang est quelquefois positive en dehors de toute intervention chirurgicale.

De même, le délai observé entre la fin de l'intervention et le prélèvement du sang destiné à la culture varie, suivant les travaux, de quelques minutes à plusieurs heures : Seifert ponctionnait les patients aussitôt que possible après l'opération et la plupart des chercheurs se sont attachés à suivre très étroitement la méthode qui lui avait réussi ; mais d'autres, craignant une action microbicide de l'anesthésique répandu dans l'économie ont plus ou moins longuement différé le moment de la prise de sang. Enfin, le nombre de cas observés n'est pas toujours suffisant pour conférer au travail une valeur statistique décisive.

La question présente cependant un grand intérêt. Si le phénomène, décrit par Seifert, a réellement la signification très générale que cet auteur lui attribue, il nous aidera sans aucun doute à comprendre certaines complications post-opératoires dont le mécanisme est encore obscur ; en outre, il viendra compléter utilement nos connaissances, aujourd'hui encore presque exclusivement expérimentales, sur les réactions de l'organisme vis-à-vis de germes pathogènes ou saprophytes introduits brusquement dans la circulation générale.

BUT DU TRAVAIL. MÉTHODES.

Nous nous sommes proposé de vérifier si des opérations sanglantes, mais bénignes, pratiquées en milieu septique, telles que l'amygdalectomie et l'ablation des végétations adénoïdes, étaient capables de provoquer une bactériémie.

Notre étude embrasse 100 cas différents. Il s'agit exclusivement de malades chez lesquels l'indication opératoire avait été posée plusieurs semaines ou même plusieurs mois auparavant et chez lesquels l'intervention eut lieu « à froid », après une longue période d'observation et de traitement médical. Un grand nombre d'hémocultures faites sur de pareils sujets nous a montré que leur sang était régulièrement stérile. Ces personnes étaient hospitalisées dès la veille, opérées le matin à jeun, sous anesthésie générale au chlorure d'éthyle, pour les enfants, sous anesthésie locale à la novocaïne, combinée avec un badigeonnage au liquide de Bonnain, pour les adultes. L'ablation des amygdales était faite par la méthode de Sluder ; celle des végétations adénoïdes à la curette à panier. Immédiatement après l'intervention, les patients, encore sous anesthésie, étaient conduits dans une salle voisine et le prélèvement du sang destiné à l'hémoculture fait aussi vite que possible. Le délai entre la fin de l'intervention et la fin de la ponction veineuse n'a dépassé cinq minutes que dans les cas exceptionnels où cette ponction était particulièrement difficile. Contrairement à quelques auteurs qui redoutaient une action antiseptique d'ailleurs très douteuse de l'anesthésique résorbé, nous avons voulu ce délai aussi bref que possible pour nous conformer au travail original de Seifert.

Pour la pratique de l'hémoculture, nous avons suivi la méthode habituellement employée dans le laboratoire où nous travaillons : de 10 à 20 cent. cubes de sang, en principe, sont prélevés stérilement à une veine du pli du coude et immédiatement introduits dans un ballon Pyrex contenant 400 cent. cubes de bouillon de viande peptoné. La dilution ainsi obtenue est suffisante pour empêcher la coagulation massive du sang et pour inhiber son action microbicide normale ; d'autre part, la couche de globules rouges sédimentés au fond du ballon entretient à ce niveau, au moins pendant la première semaine, un degré d'anaérobiose relatif, suffisant pour réussir la culture d'un grand nombre d'espèces anaérobies.

Dans certains cas, malgré tous nos efforts, la quantité de sang que nous avons pu recueillir a été inférieure à 10 cent. cubes ; nous avons néanmoins fait figurer ces cas dans notre statistique, car on verra que nous avons obtenu quelquefois des résultats positifs, à partir de 3 cent. cubes de sang. Il a pu se faire aussi que nous prélevions une quantité de sang supérieure à 20 cent. cubes : presque chaque fois, ce sang a pu être réparti dans une quantité de bouillon suffisante pour que le taux de la dilution atteigne au moins 1/20.

Ces hémocultures ont été examinées tous les trois jours, pendant deux semaines, puis, à des intervalles plus éloignés, pendant les deux semaines suivantes.

Sans vouloir discuter par le détail le choix de cette méthode d'hémoculture, disons cependant qu'elle nous a permis, en maintes circonstances, d'isoler du sang la plupart des germes aéro- et anaérobies usuels. Des germes particulièrement sensibles aux anticorps naturels du sang humain, comme le bacille de Pfeiffer, ne donnent toutefois qu'un développement assez lent [18].

Pour dénombrer les germes présents dans le sang, nous avons employé la méthode des dilutions que nous avons adaptée à ce travail de la façon suivante : nous prélevons, en principe, 20 cent. cubes de sang comme pour une hémoculture ordinaire ; 10 cent. cubes de cet échantillon sont immédiatementensemencés dans un ballon contenant de 300 à 400 cent. cubes de bouillon ; les 10 cent. cubes de sang restant sont immédiatement mélangés à 1 cent. cube d'une solution de

liquoïde Roche à 1 p. 100 dans l'eau physiologique, qui en inhibe la coagulation ; ce mélange est alors réparti stérilement dans des tubes contenant chacun 10 cent. cubes de bouillon ; un premier tube reçoit 0 c. c. 033 de sang liquoïdé, un deuxième 0 c. c. 11, un troisième 0 c. c. 16, un quatrième 0 c. c. 22, un cinquième 0 c. c. 27. Le reste de ce sang est, enfin, ensemencé par fractions de 0 c. c. 55 dans autant de tubes de bouillon qu'il est nécessaire. Nous n'ignorons pas que la méthode des numérations par dilution a subi des critiques et qu'elle ne donne des résultats dignes de foi que moyennant diverses précautions : aussi, avons-nous multiplié autant que possible le nombre de tubes mis en œuvre et poussé le fractionnement très loin ; de même, pour rencontrer les cas, à vrai dire exceptionnels dans un travail comme celui-ci, où le nombre de germes pouvait dépasser 2 par centimètre cube, devions-nous compléter la série de tubes ci-dessus décrite en ensemencant 0 c. c. 033 de sang liquoïdé dans deux boîtes de Petri contenant du bouillon gélosé fondu.

L'examen bactériologique des fragments d'amygdales et de végétations adénoïdes a été fait, comme d'habitude, de la façon suivante : ils ont été broyés au mortier avec du sable stérile, puis mélangés à une quantité de bouillon égale environ à la moitié du broyat. Après une heure de contact et de séjour à l'étuve, le liquide surnageant a été décanté et a servi à faire des isollements sur des tubes de gélose-sang inclinés ; ceux-ci ont été cultivés en aérobiose et anaérobiose. Ce liquide a en outre été cultivé en masse en bouillon-sang. Enfin, nous en avons fait des frottis ainsi que du mucus sanguinolent recouvrant les organes après l'opération, pour connaître la fréquence relative, au départ, des diverses espèces isolées.

Avant de passer à l'examen détaillé de nos observations, il convient de nous expliquer sur certaines règles que nous avons suivies pour les interpréter. Nous avons considéré comme légitimes les hémocultures contenant des germes dont l'habitat ordinaire est la gorge ou le tube digestif. Toutefois, pour éviter de comprendre dans notre statistique des résultats pouvant provenir de contaminations, nous avons éliminé les rares cas où seul, du staphylocoque blanc avait poussé, encore que ce germe se rencontre assez fréquemment à la surface des

DÉSIGNATION	AGE (ans)	NATURE de l'intervention	ANESTHÉSIE	QUANTITÉ de sang prélevé en c. c.	RÉSULTATS
Tyg... (E.). . .	9	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	5	Négatif.
Tyg... (A.). . .	14	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	<i>Streptococcus hemolyticus</i> .
Dum... (O.). . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	± 8	Négatif.
Dub... (R.). . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
Pott... (A.). . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
Sme... (R.). . .	12	Végét. adénoïd.	Générale.	18	Négatif.
Pond... (J.). . .	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus viridans</i> , <i>Gaff- kya tetragena</i> , <i>Corynebacte- rium pseudo-diphtheriticum</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i> .
Putt... (E.). . .	12	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	30	Négatif.
Cast... (H.). . .	8	Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
Lal... (V.). . .	18	Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Neisseria catarrhalis</i> .
Olb... (M.). . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
Bac... (M.-J.). . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	4	Négatif.
Breeckp... (A.). . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Strep- tococcus anaerobius</i> .
Stuck.... . . .	2 1/2	Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Escherichia coli</i> .
Hendr... (J.). . .	4	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	3	Négatif.
Lebl... (L.). . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	<i>Gaffkya tetragena</i> , <i>Strepto- coccus pneumoniae</i> .
Hemel... (E.). . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	6	Négatif.
Key... (A.). . .	3	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	<i>Streptococcus hemolyticus</i> .
Steen... (M.). . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
Caiff... (J.). . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
Kock... (J.). . .	9	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	30	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i> .
Meeu... (J.). . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	<i>Staphylococcus aureus</i> .
Aig... (H.). . .	6 1/2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
March... . . .	4	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
Moer... (L.). . .	3 1/2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
V. d. Ho... (E.). . .	2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .
Caem... (G.). . .	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	<i>Corynebacterium pseudo-diph- theriticum</i> .
V. Eynd (J.). . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Gaffkya tetragena</i> .
Grum.... . . .	14	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	<i>Corynebacterium pseudo-diph- theriticum</i> , <i>Hemophilus in- fluenzae</i> , <i>Streptococcus pneu- moniae</i> .

DÉSIGNATION	AGE (ans)	NATURE de l'intervention	ANESTHÉSIE	QUANTITÉ de sang prélevé en c. c.	RÉSULTATS
30. Raat... (A.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	Négatif.
31. Mocz... (R.) . . .	15	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
32. Bouill... . . .	34	Amygdales.	Locale.	7	Négatif.
33. Roos... (G.) . . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
34. Henss... (L.) . . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
35. Wert... (R.) . . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
36. Mol...	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
37. Drül... (J.) . . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
38. V. Nyt... (J.) . . .	"	Amygdales.	Générale.	20	Négatif.
39. V. Dael... (J.) . . .	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
40. V. Caen... . . .	27	Amygdales.	Locale.	10	Négatif.
41. Anth... (R.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	3	<i>Streptococcus pneumoniae, He-</i> <i>mophilus influenzae.</i>
42. Brand... (B.) . . .	25	Amygdales.	Locale.	17	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>
43. Mott... (J.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	9	Négatif.
44. Baum... (J.) . . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	5	Négatif.
45. Bek... (J.-B.) . . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	Négatif.
46. Gen... (S.) . . .	13	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus pneumoniae, He-</i> <i>mophilus influenzae.</i>
47. Keim... (F.) . . .	3	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	9	Négatif.
48. Aer... (P.) . . .	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	21	Négatif.
49. Kne... (F.) . . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	9	Négatif.
50. Den... (H.) . . .	9	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	11	<i>Gaff'ky tetragen.</i>
51. Gilm... (M.-L.) . . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
52. Duf... (H.) . . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>
53. Claud... (J.) . . .	21	Amygdales.	Locale.	15	Négatif.
54. Sonv... (R.) . . .	24	Amygdales.	Locale.	10	Négatif.
55. Chan... (L.) . . .	16	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
56. Waremb... (R.) . . .	19	Amygdales.	Locale.	10	<i>Streptococcus viridans.</i>
57. Van R... (H.) . . .	17	Amygdales.	Locale.	10	Négatif.
58. Sterc... (A.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus viridans.</i>
59. Klyn... (N.) . . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>
60. De Br... (F.) . . .	9	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>
61. Pen... (E.) . . .	13	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	50	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>
62. Ren... (J.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Streptococcus hemolyticus.</i>

DÉSIGNATION	AGE (ans)	NATURE de l'intervention	ANESTHÉSIE	QUANTITÉ de sang prélevé en c. c.	RÉSULTATS
33. V. d. H... (Y.) .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	<i>Gaffkya tetragena</i> .
34. Dum... (J.) . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	16	Négatif.
35. Lef... (G.) . . .	12	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	9	<i>Gaffkya tetragena</i> .
36. Versch... (H.) .	3	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	4	Négatif.
37. Dams... (Y.) . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	6,5	<i>Gaffkya tetragena</i> , <i>Bacillus</i> <i>mesentericus</i> .
38. Cornel... (E.) .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	17	<i>Shigella minutissima</i> .
39. Bert... (A.) . .	4 1/2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	3,5	<i>Gaffkya tetragena</i> .
40. Van E... (J.) . .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	4	<i>Neisseria flavescens</i> .
41. Dav... (E.) . . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	19	<i>Neisseria catarrhalis</i> .
42. Grünb... . . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	18	Négatif.
43. Brand... (J.) . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	14	Négatif.
44. Pet... (M.) . . .	11	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	Négatif.
45. Brac... (F.) . . .	8	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	8,5	Négatif.
46. Lamb... (C.) . .	12	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	19	Négatif.
47. Jord... (J.) . . .	13	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	11	Négatif.
48. Verf... (O.) . . .	4	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	3	Négatif.
49. Hard... (A.) . . .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	11	Négatif.
50. Belo... (E.) . . .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	23	<i>Gaffkya tetragena</i> .
51. Flob... (J.) . . .	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	25	Négatif.
52. Gryn... (E.) . . .	12	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	13,5	<i>Gaffkya tetragena</i> , <i>Corynebacte-</i> <i>rium pseudo-diphtheriticum</i> .
53. Lomb... (E.) . .	33	Amygdales.	Locale.	10	Négatif.
54. Braeckm... (J.)	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	<i>Gaffkya tetragena</i> .
55. Quant... (J.) . .	12	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	11	Négatif.
56. De Cuy... (C.) .	21	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	20	<i>Gaffkya tetragena</i> .
57. V. d. Bl... (A.) .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	6	Négatif.
58. Colm... (L.) . .	13	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
59. Wyns... (J.) . . .	2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
60. Willeb... (G.) .	»	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	10	Négatif.
61. Isl... (E.) . . .	2 1/2	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
62. Petr... (J.) . . .	12	Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.

DÉSIGNATION	AGE (ans)	NATURE de l'intervention	ANESTHÉSIE	QUANTITÉ de sang prélevé en c.c.	RÉSULTATS
93. Beeld... (M.) .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	8	Négatif.
94. Lauf... (Ch.) .	5	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	<i>Hemophilus influenzae</i> , <i>Mycotorula albicans</i> .
95. Preign... (B.) .	20	Amygdales.	Locale.	25	<i>Gaffkya tetragena</i> .
96. Lambr... (G.) .	6	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
97. Math... (P.) .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	12	Négatif.
98. Beng... (F.) .	7	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	22	<i>Gaffkya tetragena</i> , <i>Bacillus</i> innominé.
99. Van Imp....	10	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	8	Négatif.
100. Dunk... (I.) .	16	Amygdales. Végét. adénoïd.	Générale.	15	<i>Streptococcus anhemolyticus</i> .

amygdales. Nous n'avons retenu les hémocultures contenant des bacilles pseudo-diphtériques que lorsque ces germes présentaient tous les caractères du bacille de Hoffman (*Corynebacterium pseudo-diphtheriticum*). Enfin, pour la classification des microbes nous avons suivi le *Manual of Determinative Bacteriology de Bergey* (1934, 4^e édition), sauf pour :

1° Les streptocoques aérobies que nous avons simplement divisés en trois groupes d'après leur mode d'action sur l'hémoglobine (*hemolyticus*, *viridans*, *anhemolyticus*), tout en réservant le nom *Streptococcus pneumoniae* au pneumocoque encapsulé.

2° Les streptocoques anaérobies pour lesquels nous nous sommes ralliés à la classification donnée par Weinberg, Nativelle et Prévot [19].

3° Les champignons pour lesquels nous avons adopté la classification de Langeron.

RÉSULTATS DES HÉMOCULTURES.

Ainsi donc, les 100 hémocultures ci-dessus décrites nous permettent les conclusions suivantes :

1° Sur 9 hémocultures pratiquées en ensemençant de 3 à 5 cent. cubes de sang, nous avons obtenu 6 résultats négatifs et 3 (soit 33 p. 100) résultats positifs.

Sur 38 hémocultures pratiquées en ensemençant de 5 à 10 cent. cubes de sang, nous avons obtenu 24 résultats négatifs et 14 (soit 36,8 p. 100) résultats positifs.

Sur 46 hémocultures pratiquées en ensemençant de 10 à 20 cent. cubes de sang, nous avons obtenu 26 résultats négatifs et 20 (soit 43 p. 100) résultats positifs.

Enfin, sur 7 hémocultures pratiquées en ensemençant plus de 20 cent. cubes de sang, nous avons obtenu 4 résultats négatifs et 3 (soit 43 p. 100) résultats positifs.

Au total, sur 100 hémocultures, nous avons obtenu 60 résultats négatifs et 40 résultats positifs.

2° Parmi les interventions qui font l'objet de ce travail, 85 ont porté à la fois sur les amygdales et les végétations adénoïdes ; elles ont donné 35 résultats positifs ; 10 ont été faites sur les amygdales seules, avec 3 résultats positifs ; 5 sur les végétations adénoïdes, avec 2 résultats positifs.

3° 93 interventions ont été pratiquées sous anesthésie générale avec 37 résultats positifs ; 7 sous anesthésie locale, avec 3 résultats positifs.

4° Sur ces 40 hémocultures positives, 29 ne contenaient qu'une seule espèce microbienne ; 9 en contenaient deux ; une en contenait trois et une dernière quatre.

5° Ces espèces microbiennes sont, dans l'ordre de fréquence, les suivantes :

Gaffkya tetragena : 16 fois.

Streptococcus pneumoniae : 11 fois.

Hemophilus influenzae : 4 fois.

Corynebacterium pseudo-diphtheriticum : 4 fois.

Streptococcus hemolyticus : 4 fois.

Streptococcus viridans : 3 fois.

Neisseria catarrhalis : 3 fois.

Staphylococcus aureus : 2 fois.

Streptococcus anhemolyticus : 1 fois.

Neisseria flavescens : 1 fois.

Escherichia coli : 1 fois.

Mycotorula albicans : 1 fois.

Pseudomonas aeruginosa : 1 fois.

Bacillus mesentericus : 1 fois.

Streptococcus anaerobius : 1 fois.

Shigella minutissima : 1 fois.

Le fait le plus saillant de ce relevé est la très grande fréquence relative du tétragène et du pneumocoque, et l'on peut se demander si elle n'offre pas quelque relation avec la capsule dont ces deux espèces sont pourvues et dont l'action protectrice a maintes fois déjà été mise en évidence par l'expérimentation.

NUMÉRATION DES GERMES PRÉSENTS DANS LE SANG.

Dans 16 des cas précédents, nous avons dénombré les germes présents dans le sang immédiatement après l'intervention. Les résultats que nous avons obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

DÉSIGNATION	QUANTITÉ de sang prélevé en c. c.	NATURE DES ESPÈCES	NOMBRE de germes par c. c.
58. Sterc....	10	<i>Streptococcus viridans.</i>	0,1
59. Klyn....	15	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>	0,06
60. De Bru....	10	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>	0,1
61. Pen....	50	<i>Streptococcus pneumoniae.</i>	0,04
62. Ren....	10	<i>Streptococcus hemolyticus.</i>	2
63. V. d. Hen....	10	<i>Gaffkya tetragena.</i>	0,2
65. Lefev....	9	<i>Gaffkya tetragena.</i>	0,1
67. Dams....	6,5	1° <i>Gaffkya tetragena.</i>	0,6
		2° <i>Bacillus mesentericus.</i>	2
68. Cornel....	17	<i>Shigella minutissima.</i>	2
71. Dav....	19	<i>Neisseria catarrhalis.</i>	0,6
80. Belo....	23	<i>Gaffkya tetragena.</i>	0,1
85. Braeckm....	12	<i>Gaffkya tetragena.</i>	0,2
94. Lauf....	16	1° <i>Hemophilus influenzae.</i>	0,07
		2° <i>Mycotorula albicans.</i>	0,07
95. Preign....	25	<i>Gaffkya tetragena.</i>	0,04
98. Begn....	22	1° <i>Gaffkya tetragena.</i>	0,85
		2° <i>Bacillus innomine.</i>	0,85
96. Lambr....	12	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	0,8

Cette liste se commente d'elle-même. L'extrême variabilité des taux que nous avons trouvés est très remarquable ; ils s'étendent de 2 par centimètre cube à 0.03 par centimètre cube. Des résultats aussi bas que ce dernier correspondent à 1 germe pour 25 cent. cubes ; ils sont loin d'être exceptionnels, puisque nous les avons trouvés dans 2 cas sur 16.

Or, nombre de nos hémocultures ont été faites avec des

quantités de sang inférieures à 25 cent. cubes. Il est donc à présumer que, si les circonstances nous avaient permis de faire des prélèvements plus copieux, le pourcentage d'hémocultures positives se serait encore élevé, et il est très vraisemblable que la résorption septique après ablation des amygdales est un phénomène beaucoup plus général que nos résultats eux-mêmes ne tendent à le faire croire.

Ces taux très bas ne laissent cependant pas de prêter à une autre interprétation. De nombreux expérimentateurs ont montré que si l'on injecte à des animaux des suspensions de germes microbiens, ceux-ci, à moins d'être exceptionnellement virulents, sont très rapidement agglutinés aux plaquettes puis arrêtés dans les capillaires profonds où ils deviennent la proie des phagocytes. Ce phénomène ne dure que quelques minutes. Si donc il est logique de penser que la quantité de germes qui, après ablation des amygdales ou des végétations adénoïdes, passent dans la circulation varie beaucoup d'un individu à l'autre, il est non moins probable que les mécanismes de défense de l'organisme ont déjà fait partiellement leur œuvre au moment où nous prélevons le sang à cultiver.

A l'appui de cette hypothèse, se place la remarque faite plus haut au sujet de la grande fréquence, dans le sang des opérés, de germes munis d'une capsule et auxquels ce dispositif anatomique confère, d'après de nombreux auteurs, une plus grande stabilité dans le sang circulant (voir notamment Govaerts et Delrez).

En tout état de cause, nous avons, dans 14 cas, dont 6 ont donné ultérieurement des résultats positifs, recommencé une hémoculture dans un délai variant de une à deux heures après la première (moyenne 1 h. 20). En aucun cas nous n'avons obtenu de résultat positif. Il semble donc que non seulement les germes qui passent dans le sang au moment de l'opération en disparaissent rapidement, mais encore que la période pendant laquelle les plaies permettent leur pénétration est très courte et n'excède pas une heure.

CULTURE D'ORGANES.

Disons enfin que dans 20 cas, dont 7 ont ultérieurement donné une hémoculture positive, nous avons prélevé les amyg-

dales et les végétations adénoïdes pour en faire l'examen bactériologique. Cette étude nous a fort déçus.

L'examen direct des sécrétions qui recouvrent la surface de ces organes ou qui sont enfermées dans leurs cryptes nous a permis, dans la majorité des cas, de retrouver les germes qui se sont développés dans l'hémoculture correspondante ; mais la densité de ces germes ne paraît pas supérieure à celle des représentants des autres espèces que l'on voit dans les frottis. D'autre part, l'aspect général de ces frottis, chez les individus dont le sang s'est montré fertile, ne paraît guère différer de celui qu'il présente chez les patients dont le sang est resté stérile. De même, les espèces isolées du sang se retrouvent habituellement dans les cultures d'amygdales et de végétations adénoïdes, mais elles n'y sont guère plus abondamment représentées que les espèces qui n'ont pas passé dans la circulation. Toutes ces cultures convergent d'ailleurs assez vite et, d'un cas à l'autre, les résultats finissent par se ressembler étrangement.

COMMENTAIRES ET CONCLUSIONS.

Nous avons donc étudié 100 personnes, en général des enfants, atteintes d'amygdalite chronique ou de végétations adénoïdes ou de ces deux affections conjointement. En dehors de toute intervention chirurgicale, le sang de ces malades est régulièrement stérile. Par contre, si l'on cultive leur sang dans les minutes qui suivent une amygdalectomie ou un curetage du cavum, on y trouve des microbes dans 40 p. 100 des cas. Ces germes appartiennent le plus souvent à une seule espèce, mais il n'est pas exceptionnel d'en rencontrer deux ou même plusieurs. Cette phase bactériémique est de courte durée ; elle ne semble pas excéder une heure au plus et les cultures de sang faites de une à deux heures après l'intervention sont régulièrement stériles.

Les germes qui poussent dans l'hémoculture appartiennent à la flore des voies respiratoires et plus rarement du tube digestif. Dans la plupart des cas, ils ont pu être retrouvés dans les frottis et les cultures des organes enlevés. Toutefois, ils ne paraissent pas plus abondants à ce niveau que beaucoup

d'autres espèces que l'on ne retrouve cependant pas dans l'hémoculture. Le fait que les espèces le plus souvent rencontrées sont encapsulées semble montrer que, sinon leur pénétration, tout au moins leur persistance relative dans le sang est sous la dépendance de propriétés qui les protègent contre l'action immédiate des mécanismes d'immunité.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SEIFERT. *Arch. f. klin. Chirurgie*, **138**, 1925, p. 565.
- [2] LEHMAN. *Münch. mediz. Wochenschrift*, **73**, 1926, p. 160 et 1659.
- [3] SCOTT. *Journ. of Urology*, **21**, 1929, p. 527.
- [4] BARRINGTON et WRIGHT. *Journ. of Pathol. and Bacteriol.*, **33**, 1930, p. 871.
- [5] OKEL et ELLIOTT. *The Lancet*, 19 octobre 1935.
- [6] VAN DER HOEDEN. *Nederl. Tijdschr. voor Geneesk.*, 23 janvier 1937.
- [7] ROEHMER. *Beitr. z. klin. d. Infektionskrankh.*, **1**, 1913, p. 299.
- [8] HERBERT BROWN. *Brit. med. Journ.*, **1**, 1923, p. 591.
- [9] SCHWARTZ et FRISCH. *Diseases of Children*, **2**, 1929, p. 1282.
- [10] BARTLETT et PRATT. *Diseases of Children*, **1**, 1931, p. 285.
- [11] FISCHER et GOTTDENKER. *Wiener klin. Wochenschr.*, **4**, 1936, n° 6, p. 177.
- [12] SCHELL. *Diss. Freiburg, i. B.*, 1935.
- [13] MITTERMAIER. *Monatschr. f. Ohrenheilk.*, **73**, 1937, n° 1, p. 316.
- [14] HULK. *Nederl. Tijdschr. voor Geneesk.*, 9 janvier 1937.
- [15] HAMILTON SOUTWORTH et CARLYKE FLAKE. *Amer. J. of Med. Sc.*, **195**, new series, 1938, p. 667.
- [16] RUBEN EPSTEIN et WERNER. *Diseases of Children*, **2**, 1929, p. 726.
- [17] WIRTH. *Deutsch. med. Wochenschr.*, n° 45, 4 novembre 1932.
- [18] ELMA KRUMWIEDE et ANN KUTTNER. *Journ. of exp. Med.*, 1^{er} mars 1938.
- [19] WEINBERG, NATIVELLE et PRÉVOT. *Les microbes anaérobies*, Paris, Masson, 1937.

Le Gérant : G. MASSON.

